Agilent 6100 シリーズ 四重極 LC/MS システム

ファミリアリゼーション ガイド

Agilent Technologies

注意

© Agilent Technologies, Inc. 2009 - 2010

の許可なく、このマニュアルの一部または全部をいかなる形態（電子データやデータの抽出または他国語への翻訳など）あるいはいかなる方法によっても複製することが禁止されています。

マニュアル番号

G1960-96073

エディション

第 3 版、2010 年 4 月

Printed in USA

Agilent Technologies, Inc.
5301 Stevens Creek Blvd.
Santa Clara, CA 95051

このガイドは改訂版が作成されるまで、Agilent 6100 シリーズ四重極 LC/MS システム用 Agilent ChemSation ソフトウェア、バージョン B.03.01 以上に対して有効です。

このガイドに関するご意見がございましたら、feedback_lcms@agilent.com に電子メールをお送りください。

保証

このマニュアルの内容は「現状のまま」提供されることを前提としており、将来の改訂版で予告なく変更されることがあります。また、Agilent は適用される法律によって最大限許される範囲において、このマニュアルおよびそれに含まれる情報に関し、商品の適格性や特定用途に対する適合性への暗黙の保障を含み、また、それに限定されないすべての保証を明示的か暗黙的かを問わず、一切いたしません。

Agilent は、このマニュアルまたはこのマニュアルに記載されている情報の提供、使用または実行に関連して生じた過誤、付随的損害あるいは間接的損害に対する責任を一切負いません。

Agilent とお客様の間に書面による別の契約があり、このマニュアルの内容に対する保証条項がここに記載されている条件と矛盾する場合は、別に合意された契約の保証条項が適用されます。

技術ライセンス

本書で扱っているハードウェアおよびソフトウェアは、ライセンスに基づき提供されており、それらのライセンス条項に従う場合のみ使用または複製することができます。

安全に関する注意

注意

注意は、取り扱い上、危険があることを示します。正しく実行しなかったり、指示を遵守しないと、製品の破損や重要なデータの損失にいたるおそれのある操作手順や行為に対する注意を促すマークです。指示された条件を十分に理解し、条件が満たされるまで、注意を無視して先に進んではなりません。

警告

警告は、取り扱い上、危険があることを示します。正しく実行しなかったり、指示を遵守しないと、人身への傷害または死亡にいたるおそれのある操作手順や行為に対する注意を促すマークです。指示された条件を十分に理解し、条件が満たされるまで、警告を無視して先に進んではなりません。

このガイドでは ...

このガイドでは、ご使用の Agilent 6100 シリーズ LC/MS システムの基本操作の学習に役立つ一連の演習を提供します。

このガイドに関するご意見がございましたら、feedback_lcms@agilent.com に電子メールをお送りください。

1 分析の準備

これらの演習を使用して、LC を準備し、スルファニルアミドデモサンプルを希釈し、MS でのチューンを確認します。

2 スキャンメソッドの設定と実行

スキャンメソッドの設定方法を学習し、スルファニルアミドデモ混合物のデータを取り込みます。

3 定性データ解析

クロマトグラムとスペクトルの確認し、サンプル成分を同定する方法を学習します。これらの演習で、第 2 章で分析したスルファニルアミドサンプル、または ChemStation ソフトウェアで受け取ったデータファイルからのデータを確認します。

4 SIM メソッドの設定と実行

選択イオンモニタリング (SIM) メソッドの設定方法を学習し、スルファニルアミドデモ混合物のデータを取り込みます。

5 シーケンスの設定と実行

これらの演習を使用して、スルファニルアミド混合物の SIM 分析に対する自動シーケンスを設定し、そのシーケンスを用いてデータを取り込みます。

6 定量データ解析

サンプル成分を定量する必要がある場合のデータ解析方法を学習します。これらの演習では、ChemStation ソフトウェアとともに受け取ったカフェインデータファイルを使用します。

目次

1 分析の準備 7

演習 1. サンプル分析のための LC の準備 8
タスク 1. ChemStation の起動 8
タスク 2. ポンプのパージ 9
タスク 3. 分析のためにカラムを準備 10

演習 2. 分析のためのサンプルの準備 12

演習 3. 現在の MS チューン値の確認と必要に応じた調整 14

2 スキャンメソッドの設定と実行 17

演習 1. フルスキャン取込メソッドの設定 18
タスク 1. LC 取込パラメータの入力 18
タスク 2. MS 取り込みパラメータの入力 21

演習 2. フルスキャンメソッドを用いたデータの取り込み 25
タスク 1. サンプル情報の入力 26
タスク 2. データの取り込み 27

3 定性データ解析 29

演習 1. クロマトグラムの表示と操作 30

演習 2. マススペクトルの検討 33

演習 3. クロマトグラムの積分 38

演習 4. レポートの印刷 42

4 SIM メソッドの設定と実行 45

演習 1. SIM 取込メソッドの設定 46
タスク 1. 以前作成したスキャンメソッドの読み込み 46
タスク 2. MS 取込パラメータの入力 47

演習 2. SIM メソッドを用いたデータの取り込み 50
タスク 1. サンプル情報の入力 51
タスク 2. データの取り込み 52

5 シーケンスの設定と実行 53

演習 1. シーケンスの設定 54
タスク 1. 新規シーケンスを作成する準備 54
タスク 2. シーケンスパラメータの編集 55
タスク 3. シーケンステーブルの設定 57
タスク 4. シーケンス出力の設定 60

演習 2. シーケンスの実行 62

6 定量データ解析 63

演習 1. 定量用メソッドの作成 64
タスク 1. 新規メソッドの作成 64
タスク 2. 定量用シグナルの設定 65
タスク 3. 低濃度標準試料の積分 67
タスク 4. 一般的なキャリブレーションパラメータの設定 69
タスク 5. 検量線の設定 70
タスク 6. キャリブレーションオプションの詳細 74

演習 2. サンプルの処理とレポートの印刷 75

1 分析の準備

演習 1. サンプル分析のための LC の準備 8
タスク 1. ChemStation の起動 8
タスク 2. ポンプのパージ 9
タスク 3. 分析のためにカラムを準備 10
演習 2. 分析のためのサンプルの準備 12
演習 3. 現在の MS チューン値の確認と必要に応じた調整 14

この章では、以下の作業内容を理解するのに役立つ演習を提供します。

- 分析のために LC とカラムの準備
- これらの演習で分析するサンプルの準備
- MS のチューン設定値の確認と、必要に応じて調整

開始前に

- 以下のサンプルを準備してください。Agilent エレクトロスプレー LC デモサンプル、*p/n 59987-20033*。
- 6120 四重極 LC/MS システムをお持ちの場合、以下のカラムを準備してください。Agilent ZORBAX SB-C18、2.1 mm x 30 mm、3.5 µm、*p/n 873700-902*。
  - このカラムは、Agilent 6130 および 6150 四重極 LC/MS システムには同梱されています。
  - 別の類似カラムをお使いになる場合には、HPLC 条件を調整して上手く分離できるようにする必要があります。
- エレクトロスプレーイオン源が取り付けられているか確認してください。

- 『*Agilent 6100 シリーズ四重極 LC/MS S システムクイックスタートガイド*』および『*Agilent 6100 Series シリーズ四重極 LC/MS システムコンセプトガイド*』の第 2 章を参照してください。

演習 1. サンプル分析のための LC の準備

以下のタスクでは、左側の列に表示された手順を行ってください。さらなるヒントが必要な場合は、真ん中の列の詳細指示に従って操作します。

タスク 1. ChemStation の起動

手順	詳細指示	コメント
1 ChemStation ウィンドウを開きます。	• デスクトップにある ChemStation アイコンをクリックします。 	別の方法 : • **[スタート]** メニューから以下を選択します。 **[すべてのプログラム] > [Agilent ChemStation] > [機器 1 オンライン] を選択します。**

タスク 2. ポンプのパージ

バイナリポンプとクォータナリポンプは、これらの指示に従ってください。キャピラリポンプとナノフローポンプの指示に関しては、ChemStation のオンラインヘルプを参照してください。

手順	詳細指示	コメント
1 [メソッド & ランコントロール] ビューを表示します。	• 左下のビュー選択領域で、[**メソッド & ランコントロール**] をクリックします。 	
2 ポンプをスタンバイモードにします。	a [機器] メニューから [**続きポンプ**] > [**コントロール**] をクリックし、[ポンプコントロール] ダイアログボックスを開きます。 b [**スタンバイ**] を選択し、**[OK]** をクリックします。	別の方法 : • [ポンプ] コンテキストメニューから [**スタンバイ**] を選択します。
3 ファミリアリゼーション演習のために溶媒を準備します。 • A - 5 mM ギ酸アンモニウム水溶液 • B - 5 mM ギ酸アンモニウムメタノール溶液	a HPLC グレード水の 1 L ボトルに、5 M ギ酸アンモニウム 1 mL を加えます。 b HPLC グレードのメタノールの 1 L ボトルに、5 M ギ酸アンモニウム 1 mL を加えます。	• ギ酸アンモニウムの部品番号は G1946-85021 です。 • 各アンプルには、2.2 mL のギ酸アンモニウム溶液が入っています。
4 溶媒ボトルを準備したばかりの溶液に差し替えます。	• チャンネル A と B のボトルを差し替えます。	
5 パージバルブを開きます。	a ポンプ前面の黒色パージバルブを、反時計回りに 2 回転させます。 b ポンプからのチューブを、250 mL 以上のビーカーに入れます。	
6 5 mL/min の流量で、チャンネル A の水とチャンネル B のメタノールを用いて、B に 50% を入力します。	a ポンプアイコンをクリックします。 b [**ポンプ設定**] を選択します。 c 手順 6 のパラメータを入力し、**[OK]** をクリックします。	• HPLC グレードの溶媒を使用しているか確認してください。
7 ポンプの電源を入れ、チューブ内に気泡がないかモニタします。	a ポンプの電源を入れるには、溶媒供給 (ポンプ) アイコンの右下の小さなボタンをクリックします。 b 気泡をモニタします。	• バイナリポンプの容量の 3 倍が通過するように、約 3 分間パージします。 • 必要に応じて、最初に各チャンネルを個別にパージし、いずれのチャンネルも気泡が詰まらないようにします。

手順	詳細指示	コメント
8 気泡が出て、パージが完了した後、流量 1 mL/min で、B に 100% と入力します。	a ポンプアイコンを右クリックします。 b [**ポンプ設定**] を選択します。 c 手順 8 の新しいパラメータを入力し、[**OK**] をクリックします。	
9 もう少し長くパージし、その後、パージバルブを閉じます。	a 少しの間、パージを続けます。 b 黒色バルブを閉じます。	ポンプのパージに関する詳細情報は、ポンプに付属しているリファレンスマニュアルを参照してください。

タスク 3. 分析のためにカラムを準備

次の章の演習では、4 つのスルホンアミド化合物の混合物を分析します。以下の章の分析を行うには、まずカラムを空焼きし、平衡化する必要があります。

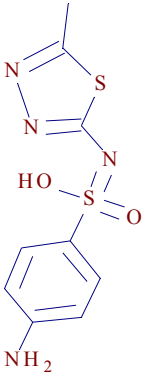
手順	詳細指示	コメント
1 検出器や MS からカラムを取り外します。	a 溶媒供給 (ポンプ) アイコンの右下の小さなボタンをクリックして、ポンプの電源を切ります。 b 検出器や MS からカラムを取り外します。 c カラムからのチューブの開放端をビーカーに入れます。	• 検出器の汚染を防止するために、カラム溶出ガスが廃液ビーカーに直接流れることができるようにします。
2 1 mL/min の 100% メタノールでカラムをフラッシュします (5 ～ 10 分間)。 • ZORBAX SB-C18、2.1 mm x 30 mm、3.5 µm、*/n 873700-902*	a ポンプの電源を入れます。 b タスク 2、手順 8 で使用された条件の下で、カラムからメタノールを流します。	• カラムカートリッジに同梱されているデータシートでは、カラム容量の 20 ～ 30 倍の 100% メタノール (約 5 ～ 7.5 mL) でフラッシュすることを推奨しています。

手順	詳細指示	コメント
3 以下のように、タスク 2、手順 6 で作成された溶媒を使用してカラムを空焼きします。 • 流量 - 0.4 mL/min • 100% B で 1/2 時間 • 50% B で 1/2 時間	**a** [機器] メニューにある [**機器メソッド設定**] をクリックし、[メソッド セットアップ] ダイアログボックスを開きます。 **b** [**ポンプ**] タブをクリックします。 **c** 手順 3 の流量を入力します。 **d** **溶媒 B** に、100 と入力し、[**適用**] をクリックします。 **e** 30 分待ちます。 **f** **溶媒 B** に、50 と入力し、[**適用**] をクリックします。 **g** 30 分待ちます。	• 流量 0.4 mL/min で、チェックアウトカラムは約 70 ～ 80 bar の圧力 (カラム出口にフィッティングを付けずに測定) を生じる必要があります。 • これらの手順を実行した後、カラムを通じたポンプ圧力が高すぎる場合、代替品の SB-C18 カラム (*p/n 873700-902*) をご注文ください。 • ご使用のカラムが新品では*ない*場合、カラムの空焼時間を短縮することが可能です。
4 分析条件でカラムを平衡化します。 • 12% B、40 ℃で 1/2 時間	**a** **溶媒 B** に、12 と入力し、**[OK]** をクリックします。 **b** [メソッド セットアップ] ダイアログボックスにある **[TCC]** タブをクリックします。 **c** **温度**に、40 と入力し、**[OK]** をクリックします。	• カラムを空焼きし、平衡化する間に、この演習の手順 5 を完了し、その後、この章の残りの演習に取り組むことが可能です。次の章へ進む前に、手順 6 を必ず完了させてください。
5 カラムが平衡化される間に、MS スプレーチャンバも加熱と平衡化できるように、パラメータを設定します。 • ドライガス流量 :8 L/min • ネブライザ圧力 :35 psig • ドライガス温度 : 300 °C • キャピラリ電圧 :3,000 V Agilent Jet Stream Technology 採用 6150: • シースガス流量 : 12 L/ 分 • シースガス温度 : 360 C° • ノズル電圧 : 0 V	**a** システムダイアグラムにある **[MSD]** アイコンを右クリックし、**[スプレーチャンバ]** を選択します。 **b** 手順 5 で説明したパラメータを入力します。 **c** **[OK]** をクリックします。 **d** MS をチューンする前に、10 分待ちます。	
6 DAD や MS にカラムを再び接続します。		• 演習 3. 現在の MS チューン値の確認と必要に応じた調整は、DAD や MS に接続されたカラムの使用の有無に関係なく完了できますが、2 章、「スキャンメソッドの設定と実行」の演習の前に、再び*接続する*必要があります。

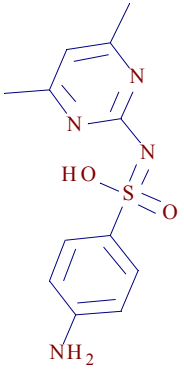
演習 2. 分析のためのサンプルの準備

次の章の演習では、4 つのスルホンアミド化合物の混合物を分析します。エレクトロスプレー LC デモサンプル (*p/n 59987-20033*)、以下の化合物が各 100 ng/µL 入ったアンプル 5 本入っています。

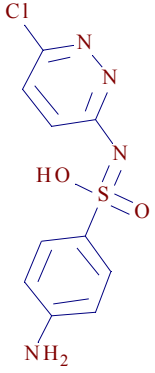
- スルファメチゾール $(M+H)^+ = 271$
- スルファメタジン $(M+H)^+ = 279$
- スルファクロロピリダジン $(M+H)^+ = 285$
- スルファジメトキシン $(M+H)^+ = 311$



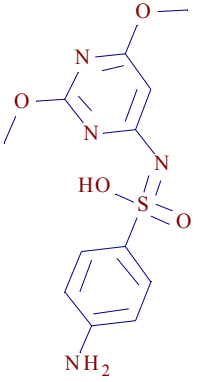
スルファメチゾール



スルファメタジン



スルファクロロピリダジン



スルファジメトキシン

以下の章の分析を行うために、まず、さまざまな希釈度でサンプルを調製する必要があります。最終濃度は、1.5 ～ 10 ng/µL になります。溶媒ブランクの調製も必要になります。

手順	詳細指示	コメント
1 1 mL オートサンプラバイアルに、オリジナルサンプルの 01:10:00 希釈物を調製します。 • 最終濃度は **10 ng/µL** です。 • 2 章のスキャン分析と、4 章と 5 章の SIM 分析に、このサンプルを使用します。	**a** スルファニルアミド 100 µL をオートサンプラバイアルに移します。 **b** 5 mM ギ酸アンモニウム (NH_4HCO_2) を含む 90:10 水 : メタノール 900 µL を加えます。 **c** バイアルにキャップを被せます。	• オリジナルのスルファニルアミド混合物は、70% 水と 30% アセトニトリルの溶媒混合液に溶解されます。
2 1 mL オートサンプラバイアルに、オリジナルサンプルの 1:20 希釈物を調製します。 • 最終濃度は **5 ng/µL** です。 • 5 章の SIM 分析に、このサンプルを使用することになります。	**a** スルファニルアミド 50 µL をオートサンプラバイアルに移します。 **b** 5 mM ギ酸アンモニウムを含む 90:10 水 : メタノール 950 µL を加えます。 **c** バイアルにキャップを被せます。	
3 1 mL オートサンプラバイアルに、オリジナルサンプルの 1:100 希釈物を調製します。 • 最終濃度は **1 ng/µL** です。 • 5 章の SIM 分析に、このサンプルを使用することになります。	**a** スルファニルアミド 10 µL をオートサンプラバイアルに移します。 **b** 5 mM ギ酸アンモニウムを含む 90:10 水 : メタノール 990 µL を加えます。 **c** バイアルにキャップを被せます。	
4 1 mL オートサンプラバイアルに溶媒ブランクを調製します。 • 5 章の SIM 分析に、このサンプルを使用することになります。	**a** オートサンプラバイアルに、5 mM ギ酸アンモニウムを含む 90:10 水 : メタノール 990 µL を移します。 **b** バイアルにキャップを被せます。	

演習 3. 現在の MS チューン値の確認と必要に応じた調整

MS は非常に安定しており、非常に頻繁にチューンする必要はありません。通常、月に 1 度のみか、多くても週に 1 度チューンするだけで差し支えありません。MS が調整されているか確認するために、この演習で説明されたチューンチェックプログラムを使用することが可能です。

手順	詳細指示	コメント
1 [MSD チューン] ビューに切り換えます。	• 左下のビュー選択領域で、**[MSD チューン]** をクリックします。 	
2 チューンファイルを選択します。	a [チューンファイルの選択] ダイアログボックスで、**ATUNES.TUN** を選択します。 b デフォルトの **[ポジティブ (標準)]** を維持します。 c **[OK]** をクリックします。 d [MSD チューン] ビューの上端近くのステータスバーに以下が表示されるか確認します。 • **モード**が **API-ES** • **ソース**が **ESI** (エレクトロスプレー)	• 適切なイオン源に、適切なキャリブラントを使用しているか確認します。
3 チェックチューンを実行します。	• **[チューン]** メニューから、**[チェックチューン]** を選択します。 チェックチューンには、前回のオートチューンから判断される値が比較のために必要になります。オートチューンは、通常、インストール時に実行されます。	• チェックチューンは、通常、MS 設定値が正しいかを確認するだけです。 • チェックチューンにより、MS 設定値に問題があることが示されると、手順 4 または手順 5 (あるいはその両方) を行います。

手順	詳細指示	コメント
4 チェックチューンレポートにより、ピーク幅またはマス軸を調整するよう勧められる場合、そのようにします。	a [**チューン**] メニューから、[**マスピーク幅の調整**] を選択します。 b [**チューン**] メニューから、[**マス軸のキャリブレーション**] を選択します。	
5 チェックチューンレポートに感度不良と表示された場合、MS 設定値の調整が大幅に外れていることを示しているため、オートチューンを実行します。	• [**チューン**] メニューから、[**オートチューン**] > [**ポジティブ**] を選択します。	• このマニュアルの演習ではポジティブイオンモードと標準スキャンスピードだけを使用するため、ネガティブや高速スキャンにチューンする必要はありません。

2
スキャンメソッドの設定と実行

演習 1. フルスキャン取込メソッドの設定 18
タスク 1. LC 取込パラメータの入力 18
タスク 2. MS 取り込みパラメータの入力 21
演習 2. フルスキャンメソッドを用いたデータの取り込み 25
タスク 1. サンプル情報の入力 26
タスク 2. データの取り込み 27

これらの演習では、デモサンプル (スルファニルアミド混合物) 用のスキャンデータ取込メソッドの設定方法と、そのメソッドを用いたデータの取込方法を示します。

これらの演習で入力する LC パラメータは、標準の Agilent 1100 シリーズや 1200 シリーズ液体クロマトグラフィ (LC) システムに適しています。ご使用の LC モデルに適した LC パラメータを入力する必要があります。

これらの演習の結果を表示するには、3 章、「定性データ解析」をご覧ください。

開始前に

- 『*Agilent 6100 シリーズ四重極 LC/MS S システムクイックスタートガイド*』および『*Agilent 6100 Series シリーズ四重極 LC/MS システムコンセプトガイド*』の第 3 章を参照してください。
- 1 章、「分析の準備」の説明に従って、LC、カラム、およびサンプラを準備します。

以下のページのタスクに関しては、左記の手順を試みてください。さらに詳しい情報が必要な場合、右記の詳細指示に従ってください。

演習 1. フルスキャン取込メソッドの設定

この演習では、デフォルトのメソッドを変更し、新しいメソッドとして保存します。この演習は、以下のタスクから構成されています。

- 18 ページの「タスク 1. LC 取込パラメータの入力」
- 21 ページの「タスク 2. MS 取り込みパラメータの入力」

タスク 1. LC 取込パラメータの入力

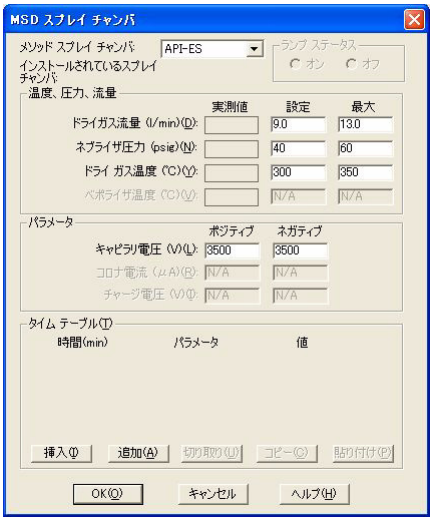
手順	詳細指示	コメント
1 [メソッド & ランコントロール] ビューを表示します。	• ChemStation ウィンドウの左下のビュー選択領域で、[**メソッド & ランコントロール**] をクリックします。 	
2 メソッド **DEF_LC.M** を開きます。	a [**ファイル**] > [**読み込み**] > [**メソッド**] を選択します。 b 必要に応じて、**C:\CHEM32\1\METHODS** に移動します。 c **[DEF_LC.M]** を選択し、**[OK]** をクリックします。	
3 **SULFA MS SCAN 1.M** という新しい名前でメソッドを保存します。	a [**ファイル**] > [**名前を付けて保存**] > [**メソッド**] を選択します。 b ダイアログボックスの [**名前**] に、`SULFA MS SCAN 1.M` と入力します。 c **[OK]** をクリックします。 d ボックスの [**メソッド履歴についてのコメント**] に、コメントを入力します。 e **[OK]** をクリックします。	• デフォルトメソッドを後から不注意で上書きしてしまわないように、メソッドを新しい名前で保存しました。

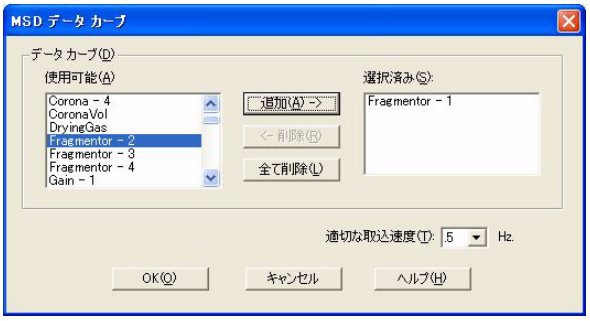
手順	詳細指示	コメント
4 注入に容量 1 µL を入力します。	**a** [機器] メニューにある [**機器メソッド設定**] をクリックし、[メソッド セットアップ] ダイアログボックスを開きます。 **b** **[ALS]** タブをクリックします。 **c** [**標準注入**] をクリックします。 **d** [**注入量**] ボックスに、1 µL 注入に対して 1 と入力します。	
5 ポンプパラメータを入力します。	**a** [メソッド セットアップ] ダイアログボックスにある [**ポンプ**] タブをクリックします。 **b** 以下のようにパラメータを設定します。 **流量** =0.400mL/min **ストップタイム** =7.00 min **ポストタイム** =3.00min 溶媒 A= 水 88% 溶媒 B= メタノール 12%	
6 下図のように、グラジェントタイムテーブルを設定します。	**a** タブの下部にある [**タイムテーブル**] 領域を開き、[**挿入**] をクリックして、最初の行を入力します。 **b** [**追加**] をクリックし、2 行目を入力します。 **c** 3 行目と 4 行目に対して、手順 b を繰り返します。	以下のようにタイムテーブルのパラメータを設定します。 1 行目 時間 1:00、%B=12、流量 =0.4 2 行目 時間 3:00、%B=100、流量 =0.4 3 行目 時間 6:00、%B=100、流量 =0.4 4 行目 時間 7:00、%B=12、流量 =0.4
7 カラムコンパートメント温度に 40 ℃を入力します。	**a** [メソッド セットアップ] ダイアログボックスにある **[TCC]** タブをクリックします。 **b** ℃のオプションボタンをクリックします。 **c** **°C** に 40.0 と入力します。	
8 以下のダイオードアレイ検出器 (DAD) のパラメータを入力します。	**a** [メソッド セットアップ] ダイアログボックスにある **[DAD]** タブをクリックします。 **b** 以下に示されているパラメータを入力します。 • シグナル A の使用 : 波長 272nm、バンド幅 16 nm • リファレンス波長 : 360 nm、リファレンスバンド幅 100 nm • スペクトル保存 : 全て • ピーク幅 : > 0.1 min **c** **[OK]** をクリックして、新しい設定値で [メソッドセットアップ] ダイアログボックスを閉じます。	• この例では DAD が使用されますが、可変波長検出器 (VWD) を同じように使用することが可能です。

手順	詳細指示	コメント
9 [ランタイムチェックリスト] の [データ解析] のみを選択します。	**a** [ランコントロール] メニューにある [**ラン タイム チェックリスト**] をクリックします。 **b** [**データ取込**] チェックボックスをオンにします。 **c** **[OK]** をクリックします。	• [ライタイムチェックリスト] の [データ取込] を含めるのが一般的ですが、これらの演習では、3 章、「定性データ解析」の結果を表示することになります。
10 新しいパラメータをメソッドファイル **SULFA MS SCAN 1.M** に保存します。	**a** [**ファイル**] > [**保存**] > [**メソッド**] を選択します。 **b** ボックスの [**メソッド履歴についてのコメント**] に、コメントを入力します。 **c** **[OK]** をクリックします。	

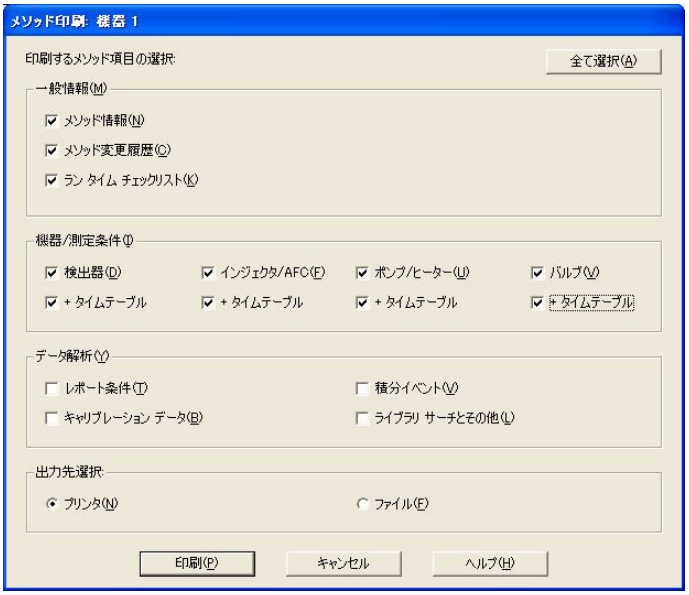
タスク 2. MS 取り込みパラメータの入力

手順	詳細指示	コメント
1 以下の四重極質量分析計 (MS) のパラメータを入力します。 • シグナル 1、スキャンモード、ポジティブ • スキャン範囲 : 100 ～ 500 • フラグメンタ : Agilent 6110 または 6120 には 100 V、6130 または 6140 には 125 V • ゲイン : 1.00 • スレッショルド : 150 • ステップサイズ : 0.10 • ピーク幅 :0.05 min • スキャンデータ保存 : コンデンス • アクティブシグナル :1 のみ	a システムダイアグラムにある **[MSD]** アイコンを右クリックし、**[MSD シグナル設定]** を選択します。 b 手順 1 で説明されたパラメータを、下図のとおりに入力します。ご使用の MS モデルに適したフラグメンタ電圧を入力するよう、注意してください。 c **[OK]** をクリックします。	• ディスク領域を節約するために、通常はラインスペクトルを取り込みます ([**スキャンデータ保存**] = [**コンデンス**])。しかし、無傷のタンパク質やタンパク質溶液 / ペプチドからスペクトルを取り込む際に、プロファイルスペクトルを取り込み、デコンボリューションする必要があります。([**スキャンデータ保存**] = [**フル**])。

手順	詳細指示	コメント
2 以下のとおり、イオン源のスプレーチャンバのパラメータを入力します。 • ドライガス流量 : 9 L/min • ネブライザ圧力 : 40 psig • ドライガス温度 : 300 ºC • キャピラリ電圧 : 3,000 V Agilent Jet Stream Technology を用いた 6150 の場合 : • ネブライザ圧力 : 206.8 kPa • ドライガス流量 : 7 L/min • ドライガス温度 : 350 °C • シースガス流量 : 12 L/min • シースガス温度 : 360 °C • キャピラリ電圧 : 4000 V • ノズル電圧 : 0 V • フラグメンタ : 200 V • マルチプライアゲイン : 3	a システムダイアグラムにある [**MSD**] アイコンを右クリックし、[**スプレーチャンバ**] を選択します。 b 手順 2 で説明されたパラメータを、下図のとおりに入力します。 c [**OK**] をクリックします。  すべてのモデル（Agilent Jet Stream Technology を用いた 6150 を除く） Agilent Jet Stream Technology を用いた 6150 の場合	

手順	詳細指示	コメント
3 分析を通じてのフラグメンタ電圧を設定し、保存します。	a システムダイアグラムにある [**MSD**] アイコンを右クリックし、[**データ カーブ**] を選択します。 b [**Fragmentor - 1**] を選択します。 c [**追加**] ボタンをクリックします。 d [**OK**] をクリックします。 	
4 メソッドを保存します。	a [**メソッド**] > [**メソッド保存**] を選択し、メソッド **SULFA MS SCAN 1.M** を上書きします。 b ボックスの [**メソッド履歴についてのコメント**] に、コメントを入力します。 c [**OK**] をクリックします。	

手順	詳細指示	コメント
5 メソッドを印刷します。	a [**メソッド**] > [**メソッド印刷**] を選択します。 b 下図のとおり、チェックボックスをオンにします。 c [**印刷**] ボタンをクリックします。	

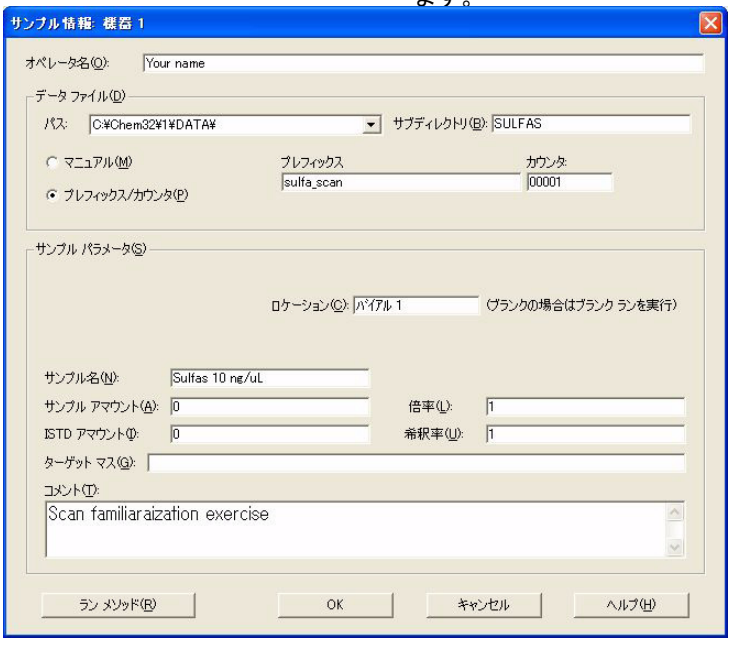


演習 2. フルスキャンメソッドを用いたデータの取り込み

これで、作成したばかりのメソッドを用いて、スルファニルアミド混合物のデータを取り込む準備が整いました。この演習は、以下のタスクから構成されています。

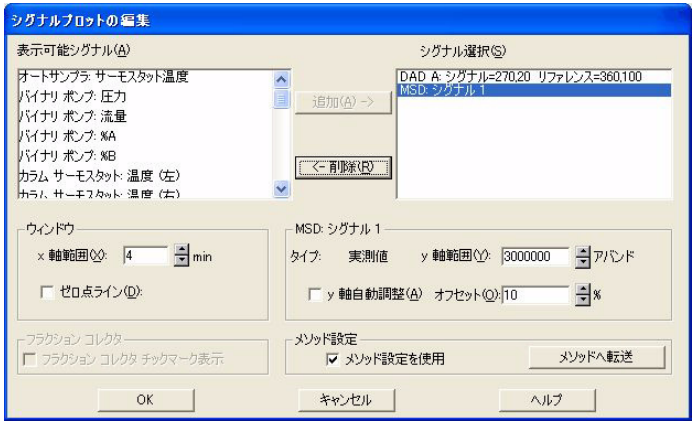
- 26 ページの「タスク 1. サンプル情報の入力」
- 27 ページの「タスク 2. データの取り込み」

タスク 1. サンプル情報の入力

手順	詳細指示	コメント
1 シングルサンプルツールセットを表示します。	• トップツールバーで、シングルサンプルアイコンをクリックします。	
1 [サンプル情報] ダイアログボックスを表示します。	a [ランコントロール] メニューにある [**サンプル情報**] をクリックします。	
2 以下のサンプル情報を入力します。 • オペレータ名 • サブディレクトリ :SULFAS • プレフィックス : Sulfa_scan • ロケーション : バイアル 1 • サンプル名 : Sulfas 10 ng/L • コメント : スキャンファミリアリゼーション演習	a 手順 2 で説明されたパラメータを、下図のとおりに入力します。 b **[OK]** をクリックします。 	• [**プレフィックス / カウンタ**] が選択されている場合、ファイル名が分析ごとに増分されます。

タスク 2. データの取り込み

手順	詳細指示	コメント
1 **10 ng/µL** で調製されたスルファニルアミドサンプルのバイアルを、オートサンプラのポジション 1 に置きます。		• 12 ページの「演習 2. 分析のためのサンプルの準備」でこのサンプルを準備しました。
2 スルファニルアミド混合物サンプルを注入します。	• [**シングルサンプル**] ボタンをクリックすると、分析が開始されます。	このボタンは、トップツールバーでシングルサンプルモードを選択した場合のみ表示されます。
3 データ取込中のトータルイオンクロマトグラムと UV クロマトグラムをモニタします。	a [オンラインプロット] ウィンドウから、[**変更**] ボタンをクリックします。 b [**表示可能シグナル**] のリストで、**DAD A: シグナル =272,16 リファレンス =360,100** を選択し、[**追加**] をクリックします。 c [表示可能シグナル] のリストで、**MSD: Signal 1** を選択し、[**追加**] をクリックします。 d MS シグナルをモニタし、安定したベースラインを確保します。	• MS シグナルのベースライン変動が 10% 以上の場合、ネブライザとイオン源チャンバのメンテナンスが必要な可能性があります。*『Agilent 6100 シリーズシングル四重極 LC/MS メンテナンスガイド』* を参照してください。



手順	詳細指示	コメント
4 [オンラインプロット] ウィンドウのシグナルを保存します。	a [**シグナルプロットの編集**] ダイアログボックスで、[**メソッドに適用**] ボタンをクリックします。 b メソッドを保存します。	
5 分析が完了したら、結果を表示します。	• 結果を表示するために、次の演習に進みます。	• C18 カラムでは、完全に空焼きするために、サンプルを 1、2 回注入する必要があります。これらの初期注入中、すべてが空隙量でカラムから溶出する可能性があります。プロセスを繰り返すと、分離が生じます。

3
定性データ解析

演習 1. クロマトグラムの表示と操作 30
演習 2. マススペクトルの検討 33
演習 3. クロマトグラムの積分 38
演習 4. レポートの印刷 42

この章では、サンプル成分の同定や確認が必要な場合に、データを解析する方法を説明します。

これらの演習では、2 章で作成したデータファイルを使用します。別の方法として、ChemStation ソフトウェアに同梱されている、スルファニルアミドデモデータファイルを使用することが可能です。

開始前に

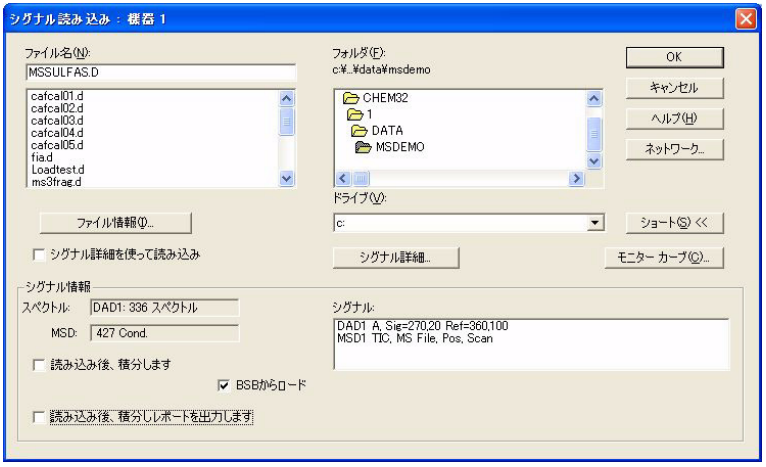
- 『*Agilent 6100 シリーズ四重極 LC/MS システム クイックスタートガイド*』を参照してください。
- 『*Agilent 6100 シリーズ四重極 LC/MS システムコンセプトガイド*』のデータ解析に関する参照してください。
- 2 章、「スキャンメソッドの設定と実行」で取込メソッドを設定し、実行したか、またはシステムの **MSDEMO** フォルダに **mssulfas.d** データファイルがあるかを確認します。

以下のページのタスクに関しては、記載されている順番で演習を行ってください。詳細な指示なしで左記の手順を試みてください。さらに詳しい情報が必要な場合、右記の詳細指示に従ってください。

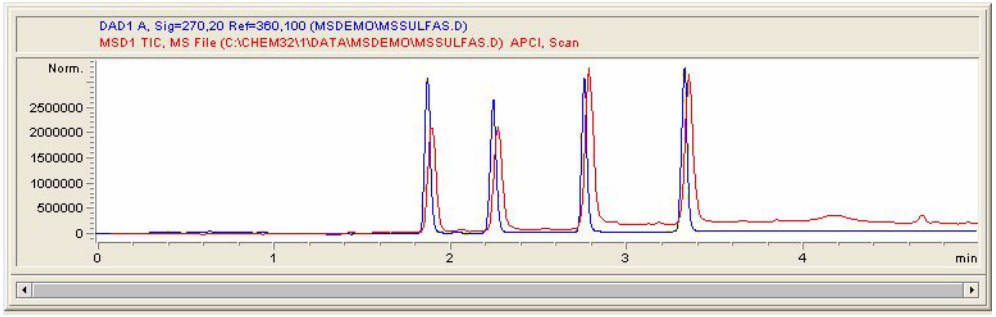
演習 1. クロマトグラムの表示と操作

この演習では、クロマトグラムを読み込み、クロマトグラフ表示を切り換えます。

手順	詳細指示	コメント
1 [データ解析] ビューを表示します。	• ChemStation ウィンドウのビュー選択領域で、[**データ解析**] をクリックします。 	
2 メソッド **SULFA MS SCAN 1.M** を読み込みます。	a [**ファイル**] > [**読み込み**] > [**メソッド**] を選択します。 b フォルダ **C:\CHEM32\1\METHODS** に移動します。 c [メソッドファイル] を選択し、**[OK]** をクリックします。	• 前の演習を完了した直後の場合、メソッドは既に読み込まれています。
3 [シグナル] ツールセットを表示します。	• ウィンドウの中央付近にある、[**シグナル**] アイコンをクリックします。	

手順	詳細指示	コメント
4 以下の操作のいずれかを行います。 • 2 章 で取り込んだデータファイル、**SULFA_SCAN00001.D** を開きます。 • **MSDEMO** フォルダにあるデータファイル **mssulfas.d** を開きます。	**a** [**ファイル**] > [**シグナル読み込み**] を選択します。 **b** 以下のいずれかの適切なフォルダに移動します。 • **C:\CHEM32\1\DATA\SULFAS** または • **C:\CHEM32\1\DATA\MSDEMO** **c** データファイルを選択します。 **d** 下記のようにその他のパラメータを設定し、**[OK]** をクリックします。 	• シグナルを読み込む別の方法に関しては、『*コンセプトガイド*』の「データ解析」の章を参照してください。 • 4 章、「SIM メソッドの設定と実行」を完了したい場合、2 章 で作成したデータファイルを処理する必要があります。SIM グループを設定するには、そのデータファイルからのレポートが必要です。
5 DAD と MS クロマトグラムがあるか確認します。	**a** 以下に示すような表示が行われるか確認します。 **b** 最上位のクロマトグラムに DAD シグナルがあるか確認します。 **c** 最下位のクロマトグラムに MSD シグナルがあるか確認します。	

手順	詳細指示	コメント
6 MS と UV クロマトグラムが重ね書き表示されるように、クロマトグラム表示を切り換えます。	a ウィンドウの中央付近の [シグナル] ツールセットにある、アイコンをクリックし、シグナルの重ね描きを表示します。 b 下記のように、クロマトグラムが重ね描きされているか確認します。 c アイコンをクリックし、個々のシグナルを表示します。	• 手順 a のアイコンは、[グラフィック] ツールセットでも使用できますが、このツールセットでは、重ね描き / 分離を切り換えます。上記のアイコンをクリックし、[グラフィック] ツールセットを表示します。

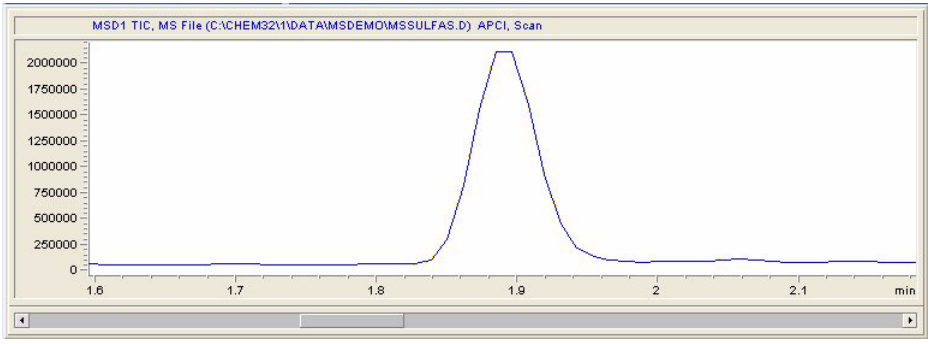


7 表示から DAD シグナルを取り除きます。	a [ナビゲーション] テーブルで、+ をクリックし、より多くの情報を表示します。 b [**シグナル**] タブの下で、**MSD1 TIC** のラベルの付いたシグナルをダブルクリックします。 c メソッドに関するメッセージが表示されたら、**[OK]** をクリックします。 d DAD ウィンドウが閉じられ、TIC だけが表示されているか確認します。	• 下記のように [ナビゲーション] テーブルが表示されない場合、上記のアイコンをクリックします。 • シグナルを削除する別の方法に関しては、『*コンセプトガイド*』の「データ解析」の章を参照してください。

演習 2. マススペクトルの検討

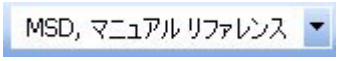
この演習では、マススペクトルの表示について学習します。対象ピークのスペクトルから後で減算することのできるバックグラウンド (リファレンス) スペクトルを選択します。単一のスペクトルとピークに対する平均スペクトルを表示する方法を学習します。

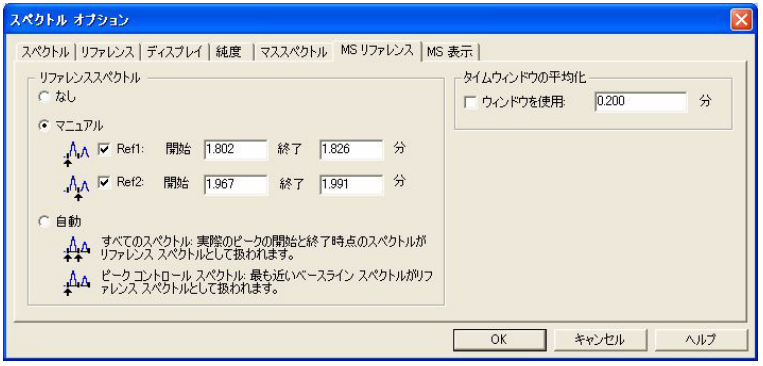
手順	詳細指示	コメント
1 クロマトグラムの最初のピークで拡大します。	a アイコンをクリックして、拡大します。 b マウスポインタを使い、ピークの周りに長方形を描きます。クロマトグラフのベースラインを含めるよう注意してください。 c ピークが下記のピークのようになっているか確認します。 d ピークの半分の高さにおける幅に注目してください。4 章 の SIM 分析を設定するために、この情報が必要になります。	• 再試行する場合、縮小して戻すことが可能です。以下の操作のいずれかを行います。 ◦ クロマトグラムウィンドウをダブルクリックします。 ◦ アイコンをクリックして、縮小します。
2 [スペクトル] ツールセットを表示します。	a ウィンドウの中央付近にある、[**スペクトル**] アイコンをクリックします。 b クロマトグラムウィンドウの下に、スペクトルを表示する余地がない場合、マウスポインタを使用して、クロマトグラムウィンドウの高さを減らします。	



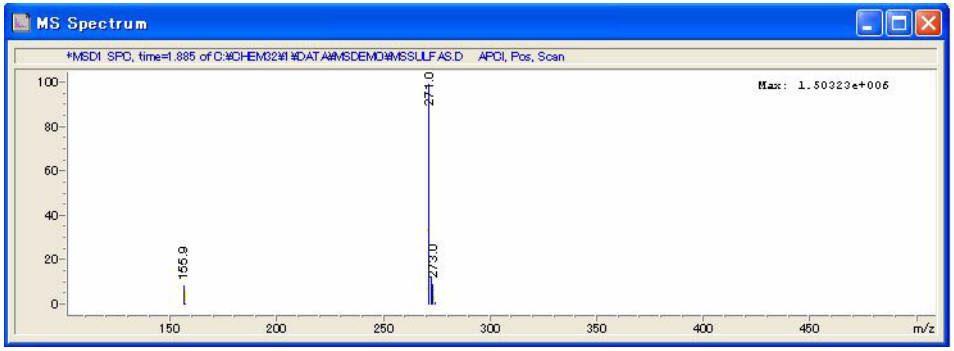
手順	詳細指示	コメント
3 ピークの左で、最初のリファレンススペクトルを取得します。	a 最初のリファレンススペクトルを選択するには、ここで強調表示されたアイコンをクリックします。 b クロマトグラムウィンドウで、ピーク直前のクロマトグラフベースラインで、以下のいずれかの操作を行います。 • クリックして、単一のスペクトルを選択します。 • クリックおよびドラッグして、平均スペクトルを選択します。	
4 ピークの右で、2 番目のリファレンススペクトルを取得します。	a 2 番目のリファレンススペクトルを選択するには、ここで強調表示されたアイコンをクリックします。 b クロマトグラムウィンドウで、ピーク直後のクロマトグラフベースラインで、以下のいずれかの操作を行います。 • クリックして、単一のスペクトルを選択します。 • クリックおよびドラッグして、平均スペクトルを選択します。	
5 リファレンススペクトルを表示します。	a スペクトルが表示されない場合、[**リファレンスマススペクトル**] とラベルの付いたウィンドウのサイズと位置を調整します。 b 1 つはピークの前、1 つはピークの後の 2 つのバックグラウンドスペクトルに注目してください。	

手順	詳細指示	コメント
6 手動バックグラウンド減算を行うようにスペクトルオプションを設定します。	a アイコンをクリックし、[スペクトルオプション] ダイアログボックスを表示します。 b **[MS リファレンス]** タブをクリックします。 c **[リファレンススペクトル]** の下の **[マニュアル]** をクリックします。 d **[Ref1]** と **[Ref2]** のチェックボックスをオンにします。選択したばかりのリファレンススペクトルの時間範囲が指定されているか注意してください。 e **[OK]** をクリックします。	• オプションを変更するまで、スペクトルオプションがその後のすべてのスペクトルに適用されます。 • クロマトグラフベースラインが分析の間に変わる場合、各対称ピークに時間が近い新しいリファレンススペクトルを選択します。 • [データ解析] ウィンドウの中央近くに、バックグラウンド減算の設定値を表示し、変更することが可能です。

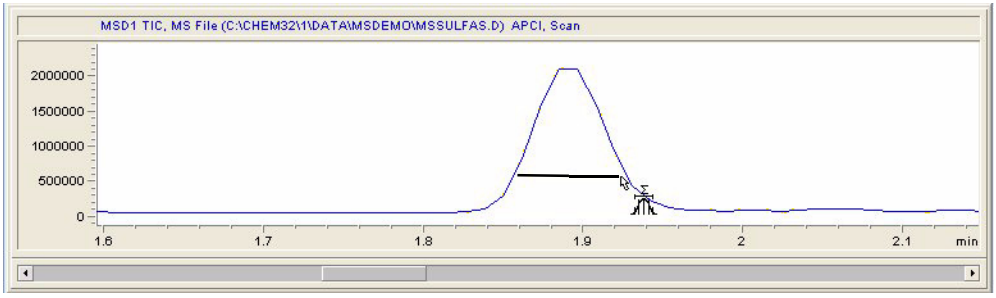




手順	詳細指示	コメント
7 最初の LC ピークからバックグラウンド減算されたスペクトル 1 つを取得します。	a アイコンをクリックし、任意のポイントのマススペクトルを取得します。 b クロマトグラムウィンドウで、ピークのいずれかの場所をクリックし、スペクトルを取得します。 c 簡単に表示するために必要な場合、**[MS Spectrum]** とラベルの付いたウィンドウのサイズと位置を調整します。 d スペクトルが下記のスペクトルとよく似ているか確認します。	• デモデータファイル (**mssulfas.d**) を取り込むために使用された条件では、化合物は以下の順序で溶出します。 スルファメチゾール、*m/z* = 271 スルファクロロピリダジン、*m/z* = 285 スルファメタジン、*m/z* = 279 スルファジメトキシン、*m/z* = 311 • 有機移動相や調整剤に応じて、279 と 285 の溶出順序は変わることがあります。



手順	詳細指示	コメント
8 最初の LC ピークからバックグラウンド減算された平均スペクトルを取得します。	a アイコンをクリックし、平均マススペクトルを取得します。 b クロマトグラムウィンドウで、下記のようにピークを横断してマウスをクリックし、ドラッグします。 c **[MS Spectrum]** とラベルの付いたウィンドウに、平均スペクトルを表示します。	• クロマトグラフピークがたった 1 つの化合物から構成される場合、平均スペクトルは通常、より正確です。



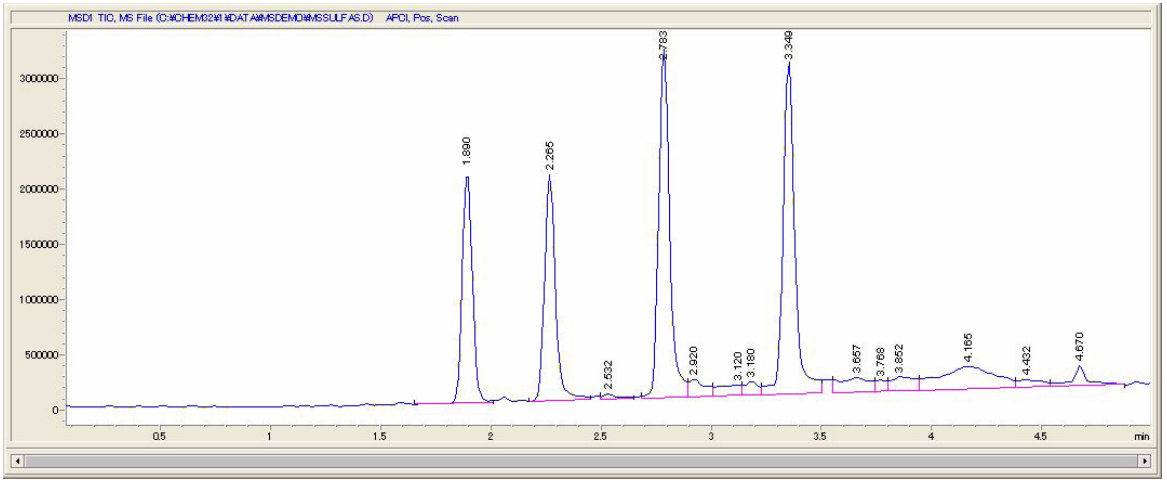
9 スペクトルを表示する簡単で速い方法に関しては、「演習 3. クロマトグラムの積分」の 手順 6 を必ず参照してください。		

演習 3. クロマトグラムの積分

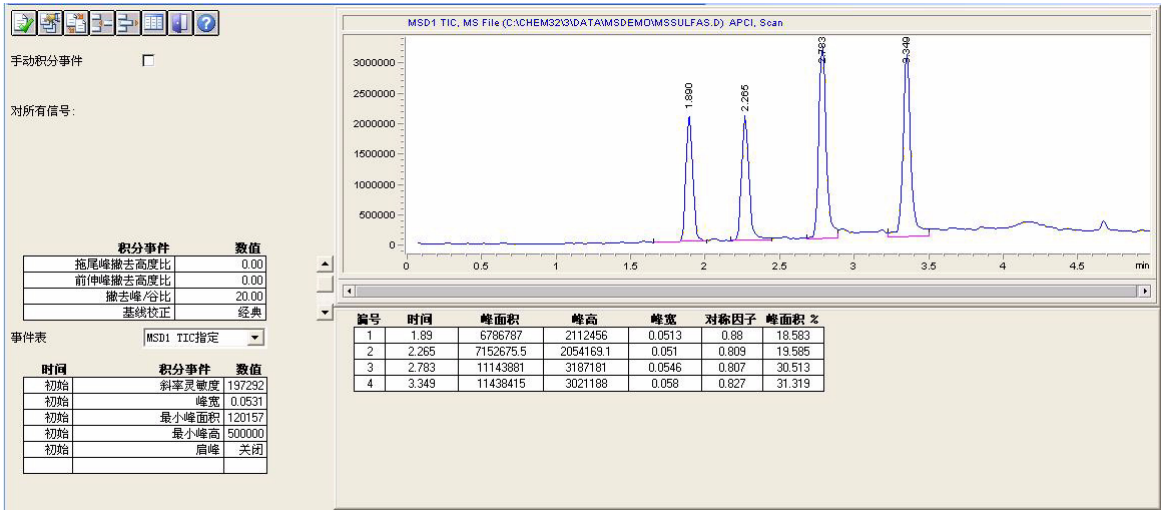
この演習では、積分イベントの設定とクロマトグラムの積分について学習します。定量に関心がない場合にでも、積分は他の目的でピークを探すのに役立ちます。たとえば、積分後、ピークごとのマススペクトルをレポートに印刷できます。

手順	詳細指示	コメント
1 トータルイオンクロマトグラムをそのまま表示します。	a クロマトグラムウィンドウを隠しているスペクトルウィンドウを最小化します。 b アイコンをクリックして、縮小します。	
2 [積分] ツールセットを表示します。	• ウィンドウの中央付近にある、[**積分**] アイコンをクリックします。	

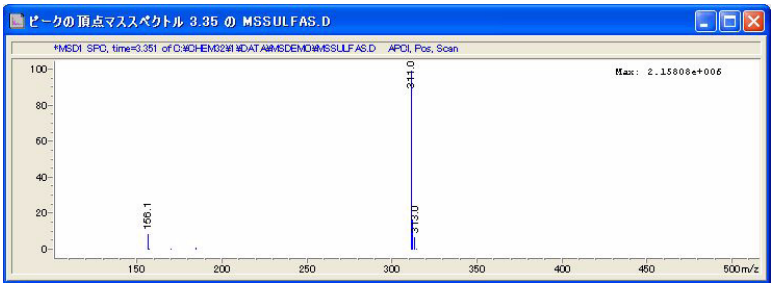
手順	詳細指示	コメント
3 クロマトグラムを積分します。	a ウィンドウの中央付近にある、[**自動積分**] アイコンをクリックします。 b 結果が下記のクロマトグラムによく似ているか確認します。	• [自動積分] により、初期積分パラメータで積分します。 • リテンションタイムが表示されない場合、[グラフィック] ツールセットのアイコンをクリックして、リテンションタイムを表示します。 • ピンク色の積分ベースラインが表示されない場合、アイコンをクリックして、ベースラインを表示します。



手順	詳細指示	コメント
4 積分パラメータを調整し、積分されたピークを 4 つだけ取得します。	a [**積分イベントテーブル設定**] のアイコンをクリックします。 b [**積分イベント**] テーブルの [**ベースライン補正**] で、[**アドバンスド**] を選択します。 c [**高さリジェクト**] に、500000 と入力します。 d [**現在のクロマトグラムを積分**] アイコンをクリックします。 e 結果が下記のクロマトグラムによく似ているか確認します。	• 積分イベントの詳細情報は、『*Agilent ChemStation: ChemStation の概要*』を参照してください。



手順	詳細指示	コメント
5 積分イベントをメモリ上のメソッドに保存します。	• アイコンをクリックし、積分イベントを終了し、保存します。	• イベントをディスク上のメソッドに保存するには、43 ページ の 手順 3 で説明するように、メソッドをディスクに保存する必要があります。
6 バックグラウンド減算されたスペクトルをより高速に表示するには、積分済みクロマトグラムを使用します。	a [**スペクトル**] アイコンをクリックします。 b アイコンをクリックし、[スペクトルオプション] ダイアログボックスを表示します。 c [**MS リファレンス**] タブをクリックします。 d [**リファレンススペクトル**] の下の [**自動**] をクリックします。 e [**OK**] をクリックします。 f アイコンをクリックし、ピーク頂点のマススペクトルを取得します。 g クロマトグラムウィンドウで、*4 番目*のピークのどこかをクリックし、スペクトルを取得します。 h スペクトルが下記のスペクトルとよく似ているか確認します。	• [**リファレンススペクトル**] を [**自動**] に設定する場合、ソフトウェアにより、[スペクトルオプション] ダイアログボックスで説明したように、各ピークのリファレンススペクトルが自動的に取得されます。 • ピーク頂点でマススペクトルを取得するアイコンは、クロマトグラムを積分した場合に限り、使用可能です。ピークのいずれの場所をクリックしても、頂点でスペクトルが取得されます。このツールを用いると、スペクトルの正確な位置を得るためにクロマトグラムを拡大する必要がありません。

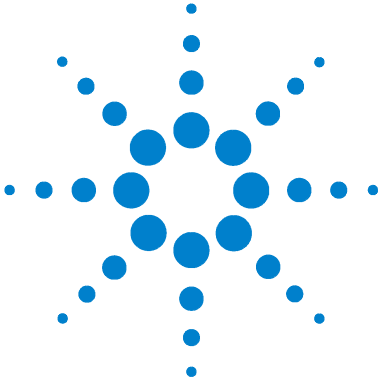


演習 4. レポートの印刷

この演習では、4 章、「SIM メソッドの設定と実行」で使用するレポートを印刷します。

手順	詳細指示	コメント
1 スクリーンに印刷されたレポートを用いて、**[LCMS 定性]** レポートスタイルを指定します。	a **[レポート] > [レポートの指定]** を選択します。 b [レポート条件] ダイアログボックスの **[出力先]** で、**[スクリーン]** のチェックボックスをオンにします。 c **[レポートスタイル]** で、**[LCMS 定性]** を選択します。 d その他の設定値が下記のとおりか確認します。 e **[OK]** をクリックします。	

手順	詳細指示	コメント
2 レポートを印刷します。	a [**レポート**] > [**レポート印刷**] を選択します。 b 少し待ってから、[レポート] ウィンドウを表示します。 c レポートの 1 ページ目に、ヘッダー情報と積分済みクロマトグラムが含まれているか確認します。 d [レポート] ウィンドウの最下部の [**次へ**] ボタンをクリックします。 e レポートの 2 ページに、最初のクロマトグラフピークの抽出イオンクロマトグラムとマススペクトルが表示されているか確認します。 f [**次へ**] をクリックして続け、さらに 3 つのクロマトグラフピークの結果を表示します。 g [レポート] ウィンドウの最下部の [**印刷**] ボタンをクリックします。これにより、レポートのハードコピーを印刷します。 h [レポート] ウィンドウの最下部の [**閉じる**] ボタンをクリックします。	• 4 章、「SIM メソッドの設定と実行」を完了する場合は、後で SIM グループを設定する際に参照するためにハードコピーを保存します。 • 抽出イオンクロマトグラムとは、ピーク純度の指標です。リテンションタイムが同期に失敗する場合は、ピークは 2 つ以上の化合物に相当する可能が高いです。
3 メソッドを保存します。	a [**ファイル**] > [**保存**] > [**メソッド保存**] を選択し、メソッド **SULFA MS SCAN 1.M** を上書きします。 b ボックスの [**メソッド履歴についてのコメント**] に、コメントを入力します。 c [**OK**] をクリックします。	• 積分パラメータ、スペクトル表示オプション、レポート設定値、その他のデータ解析設定値がメソッドの一部になるように、ここでメソッドを保存します。



4
SIM メソッドの設定と実行

演習 1. SIM 取込メソッドの設定 46
タスク 1. 以前作成したスキャンメソッドの読み込み 46
タスク 2. MS 取込パラメータの入力 47
演習 2. SIM メソッドを用いたデータの取り込み 50
タスク 1. サンプル情報の入力 51
タスク 2. データの取り込み 52

この演習では、選択イオンモニタリング (SIM) を用いたデータ取込メソッドの設定方法を説明します。デモサンプル (スルファニルアミド混合物) のメソッドを設定した後、そのメソッドでサンプルを分析します。

SIM メソッドを設定するには、2 章 で作成したスキャンメソッドを変更します。SIM 取込を設定するには、4 つのスルファニルアミド化合物それぞれに対して以下の内容が必要です。

- LC リテンションタイム
- スペクトル中のイオンの質量

3 章 で作成したレポートからこの情報を取得します。

開始前に

- このマニュアルの前の演習を完了してください。

演習 1. SIM 取込メソッドの設定

この演習では、既存のスキャンメソッドから始め、SIM 分析用に変更します。同じ LC 条件を維持し、MS 条件だけを変更します。この演習は、以下のタスクから構成されています。

- 「タスク 1. 以前作成したスキャンメソッドの読み込み」(以下)
- 47 ページの「タスク 2. MS 取込パラメータの入力」

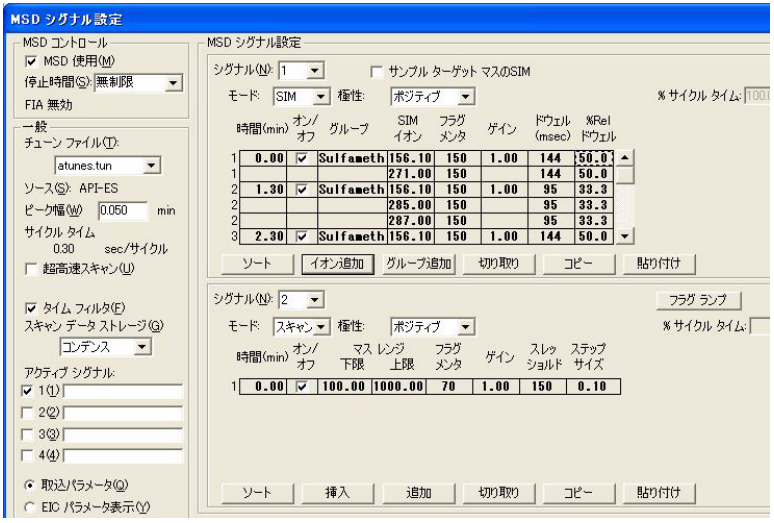
タスク 1. 以前作成したスキャンメソッドの読み込み

手順	詳細指示	コメント
4 [メソッド & ランコントロール] ビューを表示します。	• ChemStation ウィンドウのビュー選択領域で、[**メソッド & ランコントロール**] をクリックします。 	
5 メソッド **SULFA MS SCAN 1.M** を開きます。	a [**ファイル**] > [**読み込み**] > [**メソッド**] を選択します。 b 必要に応じて、**C:\CHEM32\1\METHODS** に移動します。 c **SULFA MS SCAN 1.M** を選択し、**[OK]** をクリックします。	
6 **SULFA MS SIM 1.M** という新しい名前でメソッドを保存します。	a [**ファイル**] > [**名前を付けて保存**] > [**メソッド**] を選択します。 b ダイアログボックスの [**名前**] に、SULFA MS SIM 1.M と入力します。 c **[OK]** をクリックします。 d ボックスの [**メソッド履歴についてのコメント**] に、コメントを入力します。 e **[OK]** をクリックします。	• スキャンメソッドの不注意による上書きを避けるために、ここでメソッドを保存します。

タスク 2. MS 取込パラメータの入力

手順	詳細指示	コメント
1 SIM 分析のクロマトグラフピーク幅を入力します。	a システムダイアグラムにある [**MSD**] アイコンを右クリックし、[**MSD シグナル設定**] を選択します。 b [MSD シグナル設定] ダイアログボックス表示されたら、[**ピーク幅**] に `0.05` と入力します。 c [**OK**] をクリックします。	• ピーク幅は重要な設定値です。適切な定量を行うために、クロマトグラフピーク全体にわたって十分なポイントを提供する適切な SIM ドウェルタイムをこの設定値を使用して計算します。 • ピーク幅は半値全幅 (FWHM)、つまりピーク高さの 50% での幅として定義されます。

手順	詳細指示	コメント
2 スキャン分析からのスペクトルで観察した質量 (0.1 の位まで) を用いて、最初の SIM イオンを設定します。 • スルファメチゾール : 時間 0、SIM イオン 271 および 156	a [**MSD シグナル設定**] の [**シグナル 1**] で、[**モード**] に **SIM** を選択します。 b 表の [**フラグメンタ**] に、以下のいずれかを入力します。 • Agilent 6120 : 150 • Agilent 6130 および 6150 : 200 c 表の **[Group 1]** を [**スルファメチゾール**] に変更し、**[SIM イオン**] は印刷物のスペクトルを参照し、271 イオンの質量 (0.1 の位まで) を入力します。 d [**イオン追加**] をクリックし、スルファメチゾール 156 イオンの質量を入力します。	• この例では、確認のために、各 SIM グループに疑似分子イオンと 1 つのフラグメントイオンが含まれます。 • 下図には、4 番目のサルファ剤が表示されていないことに注意してください。



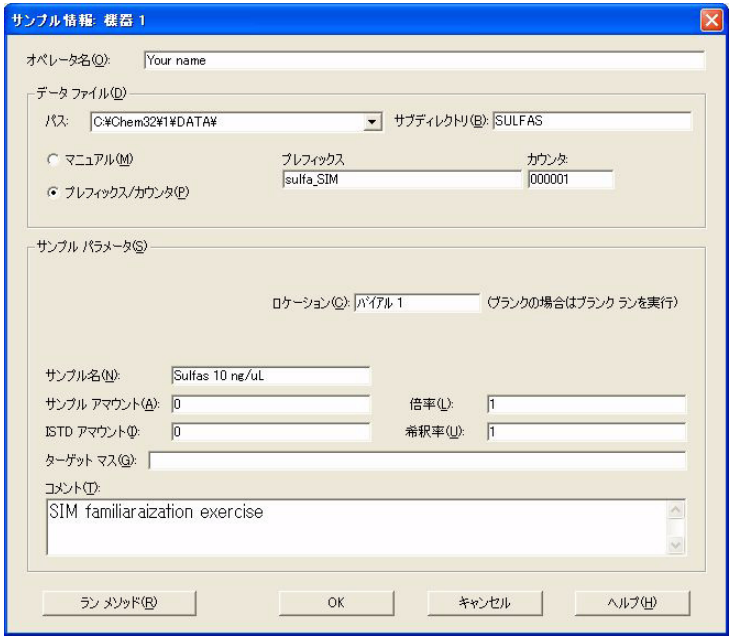
手順	詳細指示	コメント
3 スキャン分析からのスペクトルで観察した質量 (0.1 の位まで) を用いて、残りの SIM イオンを設定します。 • スルファクロロピリダジン : 時間 1.3、SIM イオン 285、287、および 156 • スルファメタジン : 時間 2.3、SIM イオン 279 および 186 • スルファジメトキシン: 時間 3.3、SIM イオン 311 および 156	**a** [**グループ追加**] をクリックし、スルファクロロピリダジンの名前、開始時間、質量 (およそ 285) を入力します。 **b** [**イオン追加**] をクリックし、スルファクロロピリダジン 156 イオンの質量を入力します。 **c** [**イオン追加**] をクリックし、スルファクロロピリダジン 287 イオンの質量を入力します。 **d** 残りの化合物それぞれに対して 2、3 個のイオンを入力するまで、以上の手順を繰り返します。 **e** **[OK]** をクリックして、[**MSD シグナル設定**] ダイアログボックスを閉じます。	• または、ここで説明したように化合物ごとに別のグループを作成する代わりに、SIM イオンのすべてを「グループ 1」に入力し、この名前を「スルホンアミド」に変更できます。最初の SIM グループは、最大 100 のイオンを含められます。 • 各 SIM グループの開始時間を調整する必要がある可能性があります。3 章 の印刷物を参照し、各グループの変化がクロマトグラフピーク間の途中で生じるように、開始時間を決定します。 • スルファクロロピリダジンとスルファメタジンのリテンションタイム差が 0.3 分以下の場合、これらのイオンを 1 つのグループにまとめます。 • スルファクロロピリダジンにはさらに、*m/z* 287 の塩素同位体が含まれます。
4 メソッドを保存します。	**a** [**メソッド**] > [**メソッド保存**] を選択し、メソッド **SULFA MS SIM 1.M** を上書きします。 **b** ボックスの [**メソッド履歴についてのコメント**] に、コメントを入力します。 **c** **[OK]** をクリックします。	

演習 2. SIM メソッドを用いたデータの取り込み

これで、作成したばかりのメソッドを用いて、スルファニルアミド混合物のデータを取り込む準備が整いました。この演習は、以下のタスクから構成されています。

- 51 ページの「タスク 1. サンプル情報の入力」
- 52 ページの「タスク 2. データの取り込み」

タスク 1. サンプル情報の入力

手順	詳細指示	コメント
1 シングルサンプルツールセットを表示します。	• トップツールバーで、シングルサンプルアイコンをクリックします。	
1 [サンプル情報] ダイアログボックスを表示します。	a [ランコントロール] メニューにある [**サンプル情報**] をクリックします。	
2 以下のサンプル情報を入力します。 • オペレータ名 • サブディレクトリ :SULFAS • プレフィックス : Sulfa_SIM • ロケーション : バイアル 1 • サンプル名 : Sulfas 10 ng/L • コメント : SIM ファミリアリゼーション演習	a 手順 2 で説明されたパラメータを、下図のとおりに入力します。 b **[OK]** をクリックします。 	• [**プレフィックス / カウンタ**] が選択されている場合、ファイル名が分析ごとに増分されます。

タスク 2. データの取り込み

手順	詳細指示	コメント
1 **10 ng/µL** で調製されたスルファニルアミドサンプルのバイアルを、オートサンプラのポジション 1 に置きます。		• 12 ページの「演習 2. 分析のためのサンプルの準備」でこのサンプルを準備しました。
2 スルファニルアミド混合物サンプルを注入します。	• [**シングルサンプル**] 開始ボタンをクリックします。 	このボタンは、トップツールバーで**シングルサンプル**モードを選択した場合のみ表示されます。
3 データ取込中のトータルイオンクロマトグラムと UV クロマトグラムをモニタします。	a [オンラインプロット] ウィンドウを有効にします。 b MS シグナルをモニタし、安定したベースラインを確保します。	• MS シグナルのベースライン変動が 10% 以上の場合、ネブライザとイオン源チャンバのメンテナンスが必要な可能性があります。*『Agilent 6100 シリーズシングル四重極 LC/MS メンテナンスガイド』* を参照してください。
4 分析が完了したら、結果を表示します。	a [データ解析] ビューを表示します。 b 作成されたデータファイルを読み込みます。 c DAD および MS のクロマトグラムを確認します。	• 操作方法がわからない場合は、3 章、30 ページの「演習 1. クロマトグラムの表示と操作」の手順に従ってください。

5 シーケンスの設定と実行

演習 1. シーケンスの設定 54
タスク 1. 新規シーケンスを作成する準備 54
タスク 2. シーケンスパラメータの編集 55
タスク 3. シーケンステーブルの設定 57
タスク 4. シーケンス出力の設定 60
演習 2. シーケンスの実行 62

これらの演習では、デモサンプル (スルファニルアミド混合物) の SIM 分析用シーケンスの設定方法と、そのシーケンスを用いたデータの取込方法について説明します。

シーケンスでは、1、5、10 ng/µL の 3 つの濃度でスルファニルアミド混合物を分析します。溶媒ブランクも分析します。

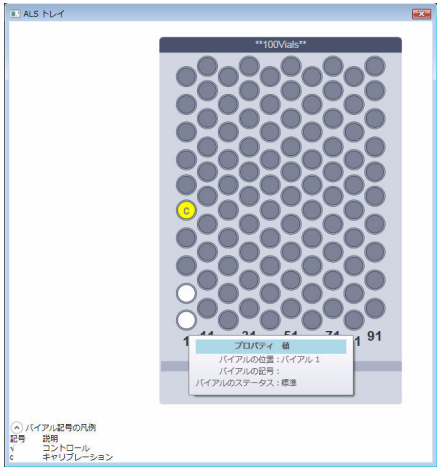
開始前に

- 『*Agilent 6100 シリーズ四重極 LC/MS S システムクイックスタートガイド*』および『*Agilent 6100 Series シリーズ四重極 LC/MS システムコンセプトガイド*』の第 3 章を参照してください。
- このマニュアルの前の演習を完了してください。

シーケンスの詳細は、『*Agilent ChemStation: ChemStation の概要*』の「自動化」の章を参照してください。

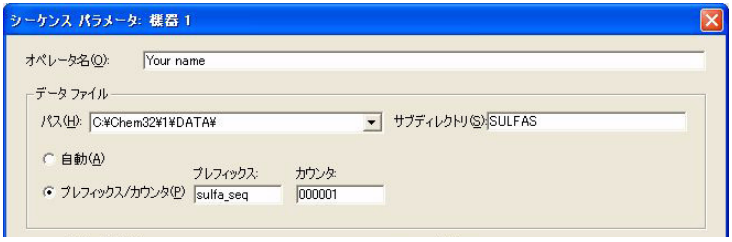
演習 1. シーケンスの設定

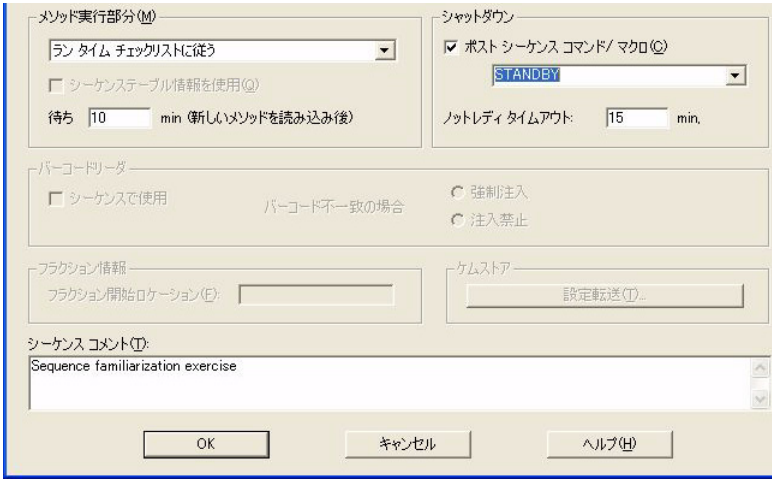
タスク 1. 新規シーケンスを作成する準備

手順	詳細指示	コメント
1 [メソッド & ランコントロール] ビューを表示します。	• ChemStation ウィンドウのビュー選択領域で、[**メソッド & ランコントロール**] をクリックします。 	
2 [**シーケンス**] ツールセットを表示します。	• トップツールバーのアイコンをクリックし、[**シーケンス**] ツールセットを表示します。 	
3 [**オートサンプラトレイ**] ダイアグラムを表示します。	• [ビュー] メニューにある [**サンプルダイアグラム**] をクリックします。 	
4 新規シーケンスの設定を開始します。	• [**シーケンス**] > [**新規シーケンス**] を選択します。	空のデフォルトシーケンスファイルである **DEF_LC.S** が自動的に読み込まれます。
5 **SULFA MS SIM 1.S** という新しい名前でシーケンスを保存します。	a [**シーケンス**] > [**名前を付けてシーケンス保存**] を選択します。 b [**名前**] に、`SULFA MS SIM 1.S` と入力します。 c [**OK**] をクリックします。	

タスク 2. シーケンスパラメータの編集

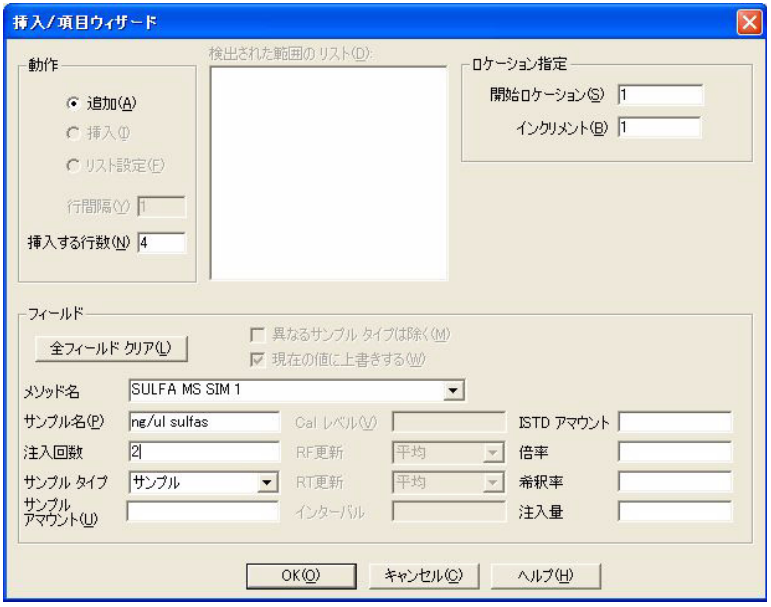
手順	詳細指示	コメント
1 [シーケンスパラメータ] ダイアログボックスを開きます。	• [**シーケンス**] > [**シーケンスパラメータ**] をクリックします。	• シーケンスパラメータは、シーケンス中のすべてのサンプルに共通の設定値です。
2 [**オペレータ名**] と [**データファイル**] のシーケンスパラメータを入力します。	a 手順 1 で説明した以下のパラメータを入力します。 ◦ オペレータ名 : *名前* ◦ サブディレクトリ :SULFAS ◦ プレフィックス : Sulfa_seq	• データファイルの上書きを回避するために、各シーケンスに対して新しいサブディレクトリを入力します。コンピュータ上にディレクトリが存在しない場合は、作成されます。 • サブディレクトリ内のデータファイルごとに一意のファイル名が自動的に作成されます。



手順	詳細指示	コメント
3 残りのシーケンスパラメータを入力します。	a 下の図に表示されている以下のパラメータを入力します。 • メソッド部分実行 : ランタイムチェックリストに従う • 待機 : 新規メソッドの読み込み後、10 分 • シャットダウン : STANDBY • ノットレディタイムアウト : 15 分 • シーケンスコメント : シーケンスファミリアリゼーション演習 b **[OK]** をクリックします。	• 再解析 (データ解析) だけを実行したい場合、[**メソッド部分実行**] で設定することになります。 • 新規メソッドが読み込まれた後、[**待機**] を使用して機器を平衡化できます。
		
	ポストシーケンスコマンド / マクロ] を使用すると、ランプやポンプなど簡単にオフにできます。シーケンスの終了時またはエラーの発生時に、コマンドまたはマクロが実行されます。	以下は、[ポストシーケンスコマンド / マクロ] の 例の 2 つです。 • [MSSetState] は、MS の状態をスタンバイに変更することのできるコマンドです。コマンドのオンラインヘルプを参照してください。 • SHUTDOWN.MAC は、システムをシャットダウンするマクロですが、使用する前にカスタマイズする必要があります。

タスク 3. シーケンステーブルの設定

手順	詳細指示	コメント
1 以下の内容を行うように、シーケンステーブルを設定します。 • ブランクの注入を繰り返し実行します。 • 1、5、10 ng/µL の 3 つの濃度でスルファニルアミド混合物の注入を繰り返し実行します。 • 4 章，「SIM メソッドの設定と実行」で作成した、メソッド **SULFA MS SIM 1.M** を使用します。	a [**シーケンス**] > [**シーケンステーブル**] をクリックします。 b シーケンステーブルの 1 行目を選択します。シーケンステーブルの [**行**] で、番号 **1** をクリックします。 c 行を削除するために、[**切り取り**] ボタンをクリックします。 d 以下に示すように、[**挿入 / 項目ウィザード**] のボタンをクリックします。 e 値を入力し、**[OK]** をクリックします。	• この手順で、すべてのサンプルに共通のシーケンステーブルの一部を設定します。 • この演習の後のほうで、サンプル名を指定します。 • シーケンステーブルにサンプルを追加には、多くの方法があります。この演習では、その方法の 1 つである [**挿入 / 項目ウィザード**] の使用のみ説明します。



手順	詳細指示	コメント
2 今までのところで作成したシーケンステーブルを表示します。	a そのテーブルを下記テーブルと比較します。 b 含まれる列や列の幅などの差に注目してください。	• 恐らく結果は違いますが、次の手順で下記のようなテーブルフォーマットを再作成することができます。

ライン	バイアル	サンプル名	メソッド名	注
1	ﾊﾞｲｱﾙ 1	ng/ul sulfas	SULFA MS SIM 1	
2	ﾊﾞｲｱﾙ 2	ng/ul sulfas	SULFA MS SIM 1	
3	ﾊﾞｲｱﾙ 3	ng/ul sulfas	SULFA MS SIM 1	
4	ﾊﾞｲｱﾙ 4	ng/ul sulfas	SULFA MS SIM 1	

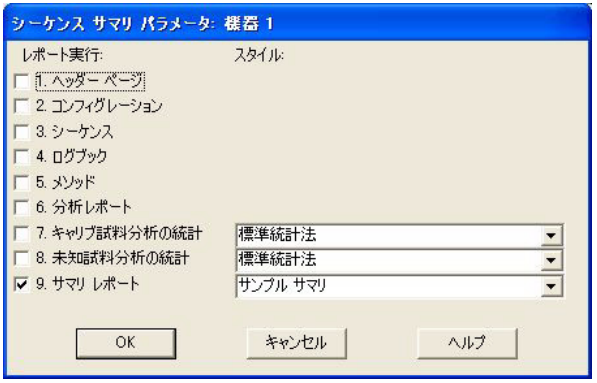
3 (オプション) 手順 2 のフォーマットに一致するように、シーケンステーブルをカスタマイズします。	a ダイアログボックスの右下隅のアイコンをクリックし、シーケンステーブルをカスタマイズします。 b 下記のように、不必要な列のチェックボックスの選択を解除します。 c 下記のように、サンプル名の列の幅を増やします。 d 下記のように、メソッド名の列の幅を減らします。 e **[OK]** をクリックします。	• 削除した列の説明に関しては、オンラインヘルプを参照してください。

手順	詳細指示	コメント
4 以下のサンプル名をテーブルに記入します。 • バイアル 1 - ブランク • 残りのバイアル - 1、5、10 ng/µL のスルファニルアミド混合物	a 下記のように、[**サンプル名**] を変更します。 b **[OK]** をクリックします。	
5 シーケンスを保存します。	• シーケンスツールセットにある [**シーケンス保存**] ボタンをクリックします。	

ライン	バイアル	サンプル名	メソッド名
1	ﾊﾞｲｱﾙ 1	Blank	SULFA MS SIM 1
2	ﾊﾞｲｱﾙ 2	1 ng/ul sulfas	SULFA MS SIM 1
3	ﾊﾞｲｱﾙ 3	5 ng/ul sulfas	SULFA MS SIM 1
4	ﾊﾞｲｱﾙ 4	10 ng/ul sulfas	SULFA MS SIM 1

タスク 4. シーケンス出力の設定

手順	詳細指示	コメント
1 プリンタに簡易シーケンスサマリを印刷するようにシーケンスを設定します。	a [**シーケンス**] > [**シーケンス出力**] をクリックします。 b [**シーケンスサマリレポートの印刷**] のチェックボックスをオンにします。 c [**プリンタへのレポート**] のチェックボックスをオンにします。 d [**設定**] ボタンをクリックします。 e 下記のとおり、ダイアログボックスに入力します。 f [シーケンスサマリパラメータ] ダイアログボックスの [**OK**] をクリックします。 g [シーケンス出力] ダイアログボックスの [**OK**] をクリックします。	• シーケンスサマリレポートに加え、メソッドで指定したとおりに、個々のサンプルレポートを印刷することが可能です。(この演習では個別のレポートを印刷しません。) • シーケンスレポートの詳細は、『*Agilent ChemStation: ChemStation の概要*』の「ChemStation レポート」に関する章を参照してください。 • 下記ダイアログボックスの設定では、最もシンプルなサマリレポートを印刷します。
2 シーケンスを保存します。	• シーケンスツールセットにある [**シーケンス保存**] ボタンをクリックします。	



手順	詳細指示	コメント
3 シーケンスを印刷します。	a [**シーケンス**] > [**シーケンス印刷**] を選択します。 b 下図のとおり、チェックボックスをオンにします。 c [**印刷**] ボタンをクリックします。	[**すべて印刷**] ボタンをクリックすると、指定した項目の代わりに、シーケンスのすべての部分を印刷します。

演習 2. シーケンスの実行

これで、作成したばかりのシーケンスを用いてデータを取り込む準備が整います。

手順	詳細指示	コメント
1 シーケンスに 4 つのサンプルが含まれることを確認します。	• [オートサンプラトレイ] ダイアグラムに 4 つのサンプルが表示されているか確認します。	
2 1 章 で調製したサンプルを、オートサンプラの適切な位置に置きます。		12 ページの " 演習 2. 分析のためのサンプルの準備 " でサンプルを準備しました。
3 サンプルを注入します。	• ランコントロールバーにある [**シーケンス**] 開始ボタンをクリックします。	このボタンは、メインツールバーでシーケンスモードを選択した場合のみ使用できます。
4 (オプション) 最初のブランク分析では、データ取込中のトータルイオンクロマトグラムと UV クロマトグラムをモニタします。	a [オンラインプロット] ウィンドウを有効にします。 b MS シグナルをモニタし、安定したベースラインを確保します。	シーケンスが進むと、[オートサンプラトレイ] ダイアグラムは、以下のように色分けされます。 灰色 - 分析済みのサンプル。 白色 - まだ分析されていないサンプル。 青色 - 現在のサンプル。
5 シーケンスが完了したら、シーケンスサマリレポートを表示します。	a プリンタからレポートを読み出します。 b レポートを調べ、すべてのサンプルが分析されたか確認します。	
6 シーケンスが完了したら、結果を表示します。	a [データ解析] ビューを表示します。 b 作成したばかりの最初のデータファイルを読み込みます。 c DAD および MS クロマトグラムを調べます。 d 他のデータファイルに対して、手順 b および 手順 c を繰り返します。	• 操作方法がわからない場合は、3 章、30 ページの " 演習 1. クロマトグラムの表示と操作 " の総合手順に従ってください。 • 独自のサンプルを分析する場合、メソッドを設定し、シーケンス中の各サンプルに対するデータ解析レポートを自動的に作成することが可能です。

6
定量データ解析

演習 1. 定量用メソッドの作成 64
タスク 1. 新規メソッドの作成 64
タスク 2. 定量用シグナルの設定 65
タスク 3. 低濃度標準試料の積分 67
タスク 4. 一般的なキャリブレーションパラメータの設定 69
タスク 5. 検量線の設定 70
タスク 6. キャリブレーションオプションの詳細 74
演習 2. サンプルの処理とレポートの印刷 75

この章では、定量を行うための ChemStation データ解析の使用方法を説明します。この章の演習では、ChemStation ソフトウェアで受け取ったデータファイルを使用するシンプルなキャリブレーションを説明します。

開始前に

- 『*Agilent 6100 シリーズ四重極 LC/MS システム クイックスタートガイド*』を参照してください。
- 『*Agilent 6100 シリーズ四重極 LC/MS システムコンセプトガイド*』のデータ解析に関する参照してください。
- ご使用の ChemStation にカフェインデータファイルがあるか確認します。**C:\CHEM32\1\DATA\MSDEMO** にあるファイルを確認します。ファイル名は **CAFCAL0*X*.D** です。ここで **x** は **1** ～ **5** の数字です。

演習 1. 定量用メソッドの作成

この演習では、デモデータ中のカフェインを定量するのに使用できる、キャリブレーションメソッドを作成します。

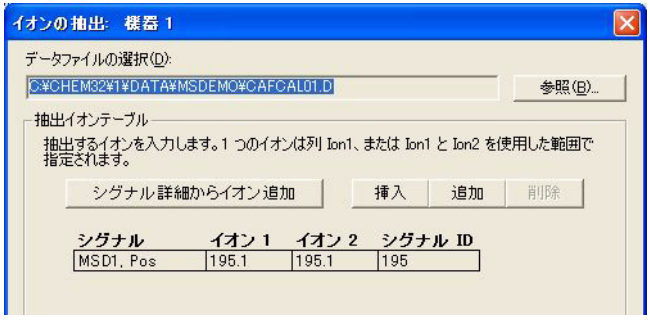
タスク 1. 新規メソッドの作成

このタスクでは、デフォルトメソッドを読み込み、新しい名前でそれを保存します。後から新規メソッドを変更し、キャリブレーションメソッドを作成します。

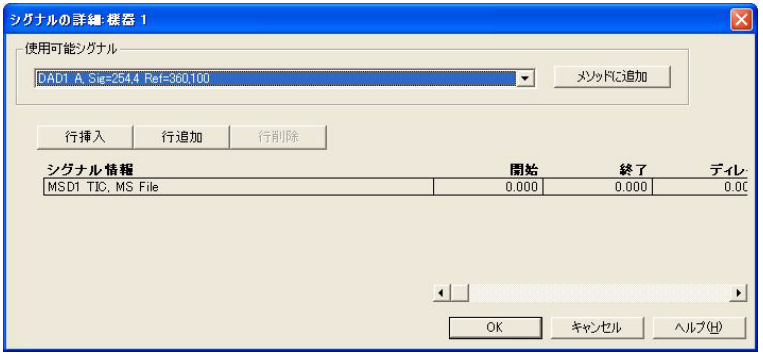
手順	詳細指示	コメント
1 [データ解析] ビューを表示します。	• ChemStation ウィンドウの左下のビュー選択領域で、[**データ解析**] をクリックします。 	
2 メソッド **DEF_LC.M** を読み込みます。	a [**ファイル**] > [**読み込み**] > [**メソッド**] をクリックします。 b フォルダ **C:\CHEM32\1\METHODS** に移動します。 c [メソッドファイル] を選択し、**[OK]** をクリックします。	
3 新しい名前 **CAFFEINE CAL.M** でメソッドを保存します。	a [**ファイル**] > [**名前を付けて保存**] > [**メソッド**] を選択します。 b フォルダ **C:\CHEM32\1\METHODS** に移動します。 c ダイアログの [**名前**] に、CAFFEINE CAL.M と入力します。 d **[OK]** をクリックします。 e ボックスの [**メソッド履歴についてのコメント**] に、コメントを入力します。 f **[OK]** をクリックします。	

タスク 2. 定量用シグナルの設定

この演習では、抽出イオンクロマトグラム (EIC) をメソッドの使用可能シグナルのリストに追加します。次に、この EIC をシグナル詳細に追加すると、残りのカフェイン標準試料に対するシグナルが自動的に読み込まれ、積分されます。

手順	詳細指示	コメント
1 **MSDEMO** フォルダにあるデータファイル **CAFCAL01.D** を開きます。	a [**ファイル**] > [**シグナル読み込み**] を選択します。 b フォルダ **C:\CHEM32\1\DATA\MSDEMO** に移動します。 c データファイル **CAFCAL01.D** を選択します。 d 必要に応じて、[**シグナル詳細を用いた読み込み**] のチェックボックスをオフにします。 e [**シグナル**] ボックスで、**MSD1 TIC** で始まるシグナルをクリックします。 f **[OK]** をクリックします。	• シグナルを読み込む別の方法に関しては、『*コンセプトガイド*』の「データ解析」の章を参照してください。
2 カフェインの主要イオンを抽出します。	a [**ファイル**] > [**イオンの抽出**] を選択します。 b [イオン 1] に、`195.1` と入力します。 c [イオン 2] に、`195.1` と入力します。 d **[OK]** をクリックします。 	• 195 イオンは $(M+H)^+$ イオンです。
3 [キャリブレーション] ツールセットを表示します。	• ウィンドウの中央付近にある、[**キャリブレーション**] アイコンをクリックします。 	

手順	詳細指示	コメント
4 定量用シグナルを設定します。	a 以下の操作のいずれかを行います。 ・ [**現在のシグナルメソッドを変更**] のアイコンをクリックします。 ・ [**キャリブレーション**] > [**シグナル詳細**] を選択します。 b [**使用可能シグナル**] のリストから、**MSD1 195、EIC = 195.1:195.1** を選択します。 c [**メソッドに追加**] をクリックします。 d **[OK]** をクリックします。	・ 手順 2 で 195 EIC を読み込んだため、EIC シグナルだけが使用可能です。
5 (オプション) 同じ名前 (**CAFFEINE CAL.M**) でメソッドを保存します。	a [**ファイル**] > [**保存**] > [**メソッド**] を選択します。 b ボックスの [**メソッド履歴についてのコメント**] に、コメントを入力します。 c **[OK]** をクリックします。	・ これらの演習では、メソッドを頻繁に保存しますが、保存せずにすべてのメソッド設定を規定するまで待つこともできます。

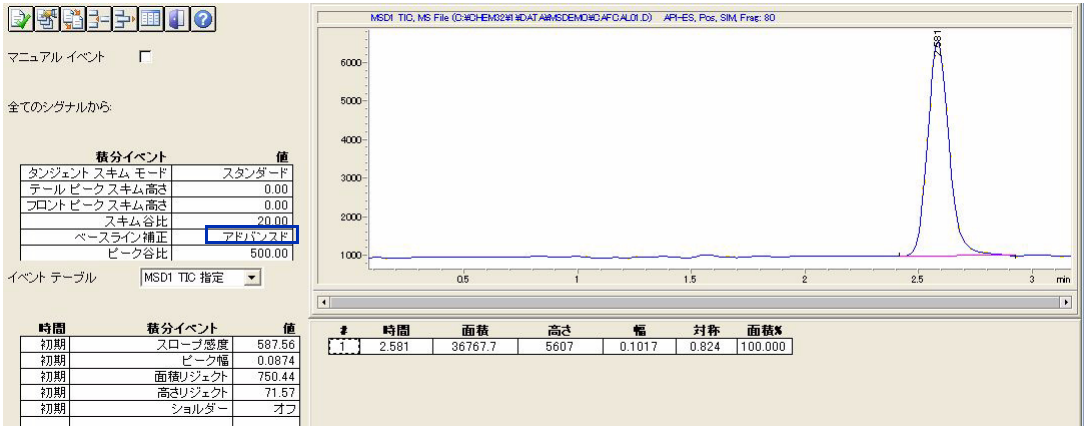


タスク 3. 低濃度標準試料の積分

この演習では、キャリブレーションメソッドの積分パラメータを規定します。通常、積分するのが最も困難なため、低濃度標準試料を使用します。

手順	詳細指示	コメント
1 [積分] ツールセットを表示します。	• ウィンドウの中央付近にある、[**積分**] アイコンをクリックします。	
2 クロマトグラムを積分します。	a ウィンドウの中央付近にある、[**自動積分**] アイコンをクリックします。 b これらの初期設定値を用いて積分されたピークが 5 つあるか調べます。	• [自動積分] により初期積分パラメータを推定し、その後、積分を行います。

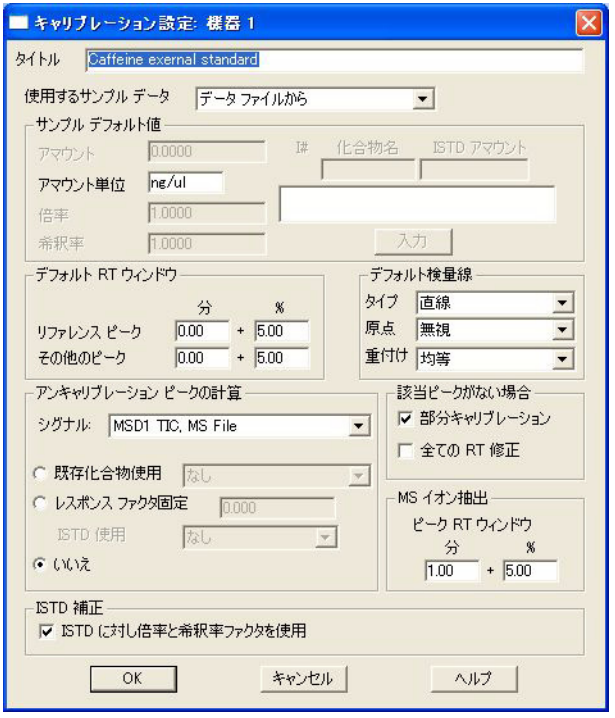
手順	詳細指示	コメント
3 積分パラメータを調整し、積分されたピークを 1 つ取得します。	a [**積分イベントテーブル設定**] のアイコンをクリックします。 b すべてのシグナルの [積分イベント] の [**ベースライン補正**] で、[**アドバンスド**] を選択します。 c [**自動積分**] アイコンをクリックします。 d イベントテーブルを保存するようにメッセージが表示されると、[**はい**] をクリックします。 e 結果が下記のクロマトグラムと同じか非常に似ているか確認します。	• 積分イベントの詳細情報は、『*Agilent ChemStation: ChemStation の概要*』を参照してください。



4 積分イベントをメモリ上のメソッドに保存します。	• アイコンをクリックし、積分イベントを終了し、保存します。	
5 (オプション) 同じ名前 (**CAFFEINE CAL.M**) でメソッドを保存します。	a [**ファイル**] > [**保存**] > [**メソッド**] を選択します。 b ボックスの [**メソッド履歴についてのコメント**] に、コメントを入力します。 c **[OK]** をクリックします。	

タスク 4. 一般的なキャリブレーションパラメータの設定

手順	詳細指示	コメント
1 キャリブレーションパラメータを規定します。	a [**キャリブレーション**] > [**キャリブレーション設定**] を選択します。 b [**タイトル**] ボックスに、[カフェイン外部標準] などのタイトルを入力します。 c 下記のとおり、残りの項目は初期設定のままにしておきます。 d **[OK]** をクリックします。	
2 (オプション) 同じ名前 (**CAFFEINE CAL.M**) でメソッドを保存します。	a [**ファイル**] > [**保存**] > [**メソッド**] を選択します。 b ボックスの [**メソッド履歴についてのコメント**] に、コメントを入力します。 c **[OK]** をクリックします。	

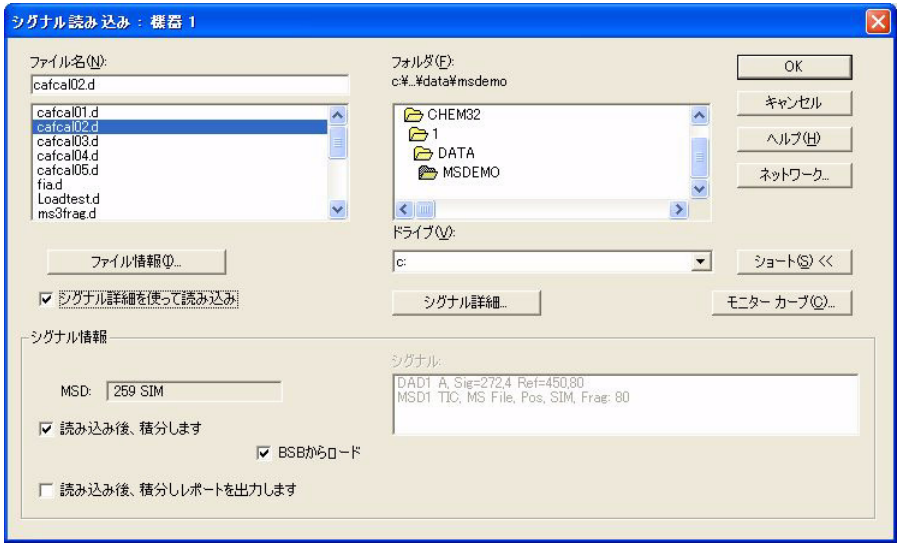


タスク 5. 検量線の設定

この演習では、残りの標準試料を積分し、すべての標準試料を検量線に追加します。

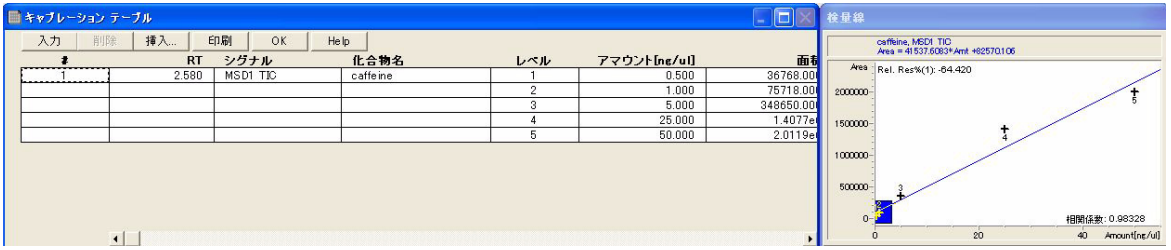
手順	詳細指示	コメント
1 [キャリブレーション] ツールセットを表示します。	• ウィンドウの中央付近にある、[**キャリブレーション**] アイコンをクリックします。	
2 低濃度標準試料を検量線に追加します。	a 以下の操作のいずれかを行います。 • [**新しいキャリブレーションテーブル**] アイコンをクリックします。 • [**キャリブレーション**] > [**新しいキャリブレーションテーブル**] を選択します。 b [**自動設定レベル 1**] をクリックします。 c **[OK]** をクリックします。 d [キャリブレーションテーブル] (下記) の [**化合物**] に [カフェイン] と入力し、**[Amt]** に `0.5` と入力します。	• 「曲線が無効」というメッセージが検量線に表示されても、この時点では心配しないでください。

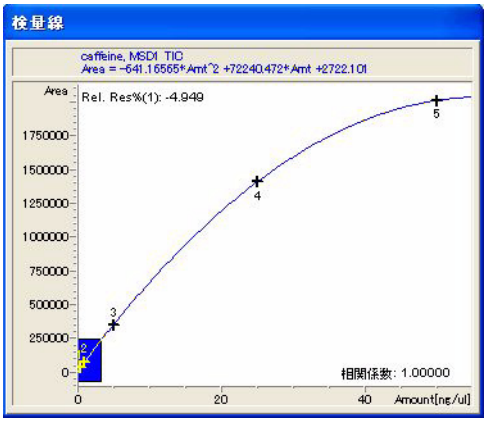
手順	詳細指示	コメント
3 2 番目の標準試料を読み込み、積分します。	a [**ファイル**] > [**シグナル読み込み**] を選択します。 b [**ファイル名**] に、[**CAFCAL02.D**] を選択します。 c [**シグナル詳細を用いた読み込み**] のチェックボックスをオンにします。 d [**読み込み後に積分します**] のチェックボックスをオンにします。 e ダイアログボックスが下記のように見えるか確認します。 f [**OK**] をクリックします。	• これらの設定により、1 つの手順で適切なシグナルを読み込み、それらを積分することが可能になります。



4 2 番目の標準試料を検量線に追加します。	a [**新しいレベルを追加**] のアイコンをクリックします。 b ダイアログボックスの [**デフォルトアマウント**] に、`1` と入力し、[**OK**] をクリックします。 c 現在、キャリブレーションテーブルには 2 つのエントリがあり、検量線には 2 つのポイントが含まれていることを確認します。	

手順	詳細指示	コメント
5 残り 3 つの標準試料をキャリブレーションテーブルに追加します。 • CAFCAL03.D: 5 ng/L • CAFCAL04.D: 25 ng/L • CAFCAL05.D: 50 ng/L	a [**ファイル**] > [**シグナル読み込み**] を選択します。 b [**ファイル名**] で、次のデータファイルを選択します。 c クロマトグラムが適切に積分されているか確認します。 d [**新しいレベルを追加**] のアイコンをクリックします。 e ダイアログボックスの [**デフォルトアマウント**] に、手順 5 で示したアマウントを入力し、**[OK]** をクリックします。 f キャリブレーションテーブルと検量線に新しいエントリが含まれているか確認します。 g すべての標準試料を追加するまで、手順 a から手順 f まで繰り返します。 h キャリブレーションテーブルと検量線が下記のように見えるか確認します。	• クロマトグラム中に複数のピークが含まれている場合、リテンションタイムを使用し、検量線に対して相応しいピークを検出します。



手順	詳細指示	コメント
6 検量線を調整します。	a [**キャリブレーション**] > [**キャリブレーション設定**] を選択します。 b [**デフォルト検量線**] の [**タイプ**] で、[**二次**] を選択します。 c **[OK]** をクリックします。 d 検量線が下記のように見えるか確認します。 	
7 (オプション) 同じ名前 (**CAFFEINE CAL.M**) でメソッドを保存します。	a [**ファイル**] > [**保存**] > [**メソッド**] を選択します。 b ボックスの [**メソッド履歴についてのコメント**] に、コメントを入力します。 c **[OK]** をクリックします。	

タスク 6. キャリブレーションオプションの詳細

この演習では、さらに多くのキャリブレーションオプションを提供する追加キャリブレーションテーブルレイアウトを説明します。カフェインデモサンプルの処理にこれらのオプションは必要ありませんが、独自のサンプルを処理する際に必要になる可能性があります。

手順	詳細指示	コメント
1 検量線を作成する方法を変更するオプションを調べます。	a [**キャリブレーションテーブルオプション**] > [**ピーク詳細**] を選択します。 b キャリブレーションテーブルに以下の列があるか確認します。 • **検量線タイプ** • **原点** • **重み付け**	• このキャリブレーションテーブルレイアウトにより以下の内容を変更できることに注意してください。 • **検量線タイプ**: 検量線のタイプ (一次、二次など)。 • **原点** : 原点 (ゼロポイント) の処理方法。 • **重み付け** : データポイントの相対的な重み付け。
2 クォリファイアイオンを追加するオプションを調べます。	a [**キャリブレーションテーブルオプション**] > [**同定詳細**] を選択します。 b キャリブレーションテーブルに以下の列があるか確認します。 • **Resp %** (レスポンスパーセント) • **+-** (レスポンスパーセントのウィンドウ) • **Pk Usage** (ピーク用途)	• このキャリブレーションテーブルレイアウトにより以下の内容を定義できることに注意してください。 • **ピーク用途** : 主要キャリブレーションイオンやクォリファイアイオンなど、キャリブレーションがピークを使用する方法 • **レスポンス %**: クォリファイアイオンの予想レスポンスで、主要ピークの割合 • **+-**: 予想割合のウィンドウ。
3 キャリブレーションテーブルのオリジナルのオプションを表示します。	a [**キャリブレーションテーブルオプション**] > [**概要**] を選択します。 b キャリブレーションテーブルが 72 ページの 手順 5 と同じように見えるか確認します。	

演習 2. サンプルの処理とレポートの印刷

この演習では、レポートを指定し、標準試料の 1 つをサンプルのように処理することによってキャリブレーションメソッドをテストします。結果のレポートを印刷します。

手順	詳細指示	コメント
1 以下の設定値でレポートを指定します。 • レポート出力先 : スクリーン • 外部標準 (ESTD) 計算、面積カウント法 • レポートスタイル : 詳細	a 以下の操作のいずれかを行います。 • **[レポート] > [レポートの指定]** を選択します。 • **[レポート条件]** アイコンをクリックします。 b 手順 1 の説明に従って、下図で示されているとおりにパラメータを入力します。 c **[OK]** をクリックします。	

手順	詳細指示	コメント
2 同じ名前 (**CAFFEINE CAL.M**) でメソッドを保存します。	a [**ファイル**] > [**保存**] > [**メソッド**] を選択します。 b ボックスの [**メソッド履歴についてのコメント**] に、コメントを入力します。 c [**OK**] をクリックします。	
3 中濃度の標準試料を読み込みます。	a [**ファイル**] > [**シグナル読み込み**] を選択します。 b [**ファイル名**] に、[**CAFCAL03.D**] を選択します。	
4 中濃度標準試料を処理し、レポートを印刷します。	a 以下の操作のいずれかを行います。 ・ [**レポート**] > [**レポート印刷**] を選択します。 ・ アイコンをクリックし、結果をプレビューします。 b レポートの 1 ページ目に、ヘッダー情報、積分済みクロマトグラム、外部標準レポートが含まれているか確認します。 c カフェインアマウントが約 5 ng/µL であるか確認します。 d [レポート] ウィンドウの最下部の [**次へ**] ボタンをクリックします。 e レポートの 2 ページ目に、点線で識別された測定ポイントを含む検量線が表示されているか確認します。 f (オプション) レポートウィンドウの最下部の [**印刷**] ボタンをクリックすると、ハードコピーが手に入ります。 g [レポート] ウィンドウの最下部の [**閉じる**] ボタンをクリックします。	・ ハードコピーを作成する別の方法は、[**レポート印刷**] アイコンをクリックすることです。

www.agilent.com

本書では

本書の演習を実行することにより以下の操作を学習できます。

- 分析前に行う LC/MS システムの準備
- スキャンや SIM 分析用メソッドの設定
- データ取り込み
- 自動サンプル分析用シーケンスの設定
- 定性および定量解析の実行

© Agilent Technologies, Inc. 2009 - 2010

Printed in USA
第 3 版、2010 年 4 月

G1960-96073

Agilent Technologies